**KELLI CARDOSO LOPES RODRIGUES**

# PRODUÇÃO DE ELASTÔMEROS BIODEGRADÁVEIS POR BACTÉRIAS ISOLADAS DE LODO DE ESGOTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

São Paulo
2013

**KELLI CARDOSO LOPES RODRIGUES**

# PRODUÇÃO DE ELASTÔMEROS BIODEGRADÁVEIS POR BACTÉRIAS ISOLADAS DE LODO DE ESGOTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. José Gregório Cabrera Gomez

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2013

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

reprodução não autorizada pelo autor

Rodrigues, Kelli Cardoso Lopes.
Produção de elastômeros biodegradáveis por bactérias isoladas de lodo de esgoto / Kelli Cardoso Lopes Rodrigues. -- São Paulo, 2013.

Orientador: Prof. Dr. José Gregório Cabrera Gomez.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Obtenção de bioprodutos, polihidroxialcanoatos.

Versão do título para o inglês: Production of biodegradable elastomers by bacteria isolated from sewage sludge.

1. Bioprodutos 2. Metabolismo 3. Polihidroxialcanoatos 4. Xilose 5. *Pseudomonas* sp. I. Gomez, Prof. Dr. José Gregório Cabrera II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia III. Título.

ICB/SBIB0228/2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

---

Candidato(a): Kelli Cardoso Lopes Rodrigues.

Título da Produção de elastômeros biodegradáveis por bactérias isoladas de lodo de esgoto.

Orientador(a): Prof. Dr. José Gregório Cabrera Gomez.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da **Dissertação de Mestrado,** em sessão pública realizada a ...../...../....., considerou

**( ) Aprovado(a)** **( ) Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil
Telefone :(55) (11) 3091-7733 - telefax : (55) (11) 3091-8405
e-mail: cep@icb.usp.br

*Comissão de Ética em Pesquisa*

# CERTIFICADO DE ISENÇÃO

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB Nº **464/11** referente ao projeto intitulado: "*Produção de elastômeros biodegradáveis por bactérias isoladas de lodo de esgoto*" sob a responsabilidade de **Kelli Cardoso Lopes,** foi analisado na presente data pela CEUA - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS e pela CEPSH- COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS, tendo sido deliberado que o referido projeto não utilizará animais que estejam sob a égide da lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, nem envolverá procedimentos regulados pela Resolução CONEP nº196 de 1996.

São Paulo, 29 de junho de 2011.

PROF. DR. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador da CEUA - ICB/USP

PROF. DR. PAOLO M.A ZANOTTO
Coordenador da CEPsh - ICB/USP

A Deus,

Aos meus pais, irmãs e sobrinhos,

Ao Leandro, meu grande amor.

## AGRADECIMENTOS

Sou primeiramente grata a Deus, por todo auxílio a mim concedido nos momentos mais difíceis e, por me permitir a realizar mais um sonho;

Agradeço imensamente ao Prof. Dr. José Gregório C. Gomez, por toda paciência, apoio, incentivo, conhecimento e compreensão que me foi dado ao longo desses anos. Você é um exemplo de humildade e dedicação à pesquisa;

Agradeço a Profª. Luiziana Ferreira da Silva, pela amizade, conselhos e oportunidade de trabalho, mesmo quando ainda não era aluna;

A Marilda K. Taciro por toda ajuda na finalização dos cálculos dos ensaios em biorreator; pelas valiosas dicas e amizade;

A Daniela Lício, pela amizade e paciência em me ensinar a rotina do laboratório!

Ao César Guzman, que colaborou na realização dos ensaios de acúmulo. Agradeço a dedicação que teve com o projeto!

Aos amigos de laboratório, de hoje e aos que já se foram: Amanda, Carlos, Cristiane Honna, Débora Parrine, Diana, Edmar, Gabriela, Johana Bocanegra, Juliano, Lucas, Linda, Karel, Karen, Rogério, Rominne Freire, Paola Galindo, Thandara e Thatiane, que sempre contribuíram de alguma forma para o andamento deste trabalho! Sempre me lembrarei com muito carinho de vocês!

A Bruna Buscariollo, pela ajuda nos ensaios em reator.

Agradeço também aos vizinhos de laboratório, Taís Kuniyoshi, Felipe, Cecília e Carla, por toda ajuda e amizade!

Aos técnicos de laboratório: Aelson, Alexandre e Aline; muito obrigada pela colaboração;

Agradeço aos meus queridos pais, Cleuza e Nelson por todo carinho e apoio! Vocês são os meus grandes exemplos de vida!

As minhas irmãs, Fábia e Flávia; aos meus cunhados, Valmir e Yukio e aos meus queridos sobrinhos, Gabriel, Gustavo, Eduardo e Felipe. Muito obrigada por todo incentivo e carinho depositado a mim! Sou muito feliz por tê-los em minha vida!

Ao Leandro, meu esposo, companheiro, amigo e confidente. Amor, muito obrigada pela ajuda nos momentos mais difíceis, pelas longas noites no laboratório, por estar sempre pertinho de mim, me apoiando, incentivando e comemorando minhas conquistas!!!

A família Rodrigues! Obrigada pelo carinho e torcida;

Aos pastores, amigos e irmãos, por todo incentivo e orações ao longo desta caminhada;

Agradeço a Larissa, por ser só ouvidos nos momentos de incertezas e alegrias!

Por fim, sou grata a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo auxílio a mim concedido para a realização deste trabalho.

# RESUMO

RODRIGUES, K. C. L. **Produção de elastômeros biodegradáveis por bactérias isoladas de lodo de esgoto.** 2013. 126 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Polihidroxialcanoatos (PHA) são polímeros armazenados intracelularmente como forma de reserva, podendo servir como fonte de carbono e energia em casos de escassez nutricional. PHA têm despertado interesse industrial, pois apresentam propriedades termoplásticas, são biodegradáveis e podem ser sintetizados a partir de matérias primas renováveis. Os monômeros que constituem os PHA podem ser divididos em dois grupos: os de cadeia curta, que contem de 3 a 5 átomos de carbono na cadeia principal, e os de cadeia média, contendo de 6 a 16 átomos de carbono na cadeia principal. A produção de PHA contendo monômeros de cadeia média ($PHA_{MCL}$) é realizada principalmente por bactérias do gênero *Pseudomonas*. Este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial de diferentes isolados bacterianos para produção de $PHA_{MCL}$ a partir de carboidratos ou glicerol. Um total de 39 isolados foi avaliado. Não foi detectado nenhum isolado capaz de utilizar eficientemente amido, lactose ou sacarose para produção destes polímeros. Embora muitos isolados tenham apresentado bom desempenho na produção de PHA a partir de glicose ou frutose, este foi inferior à linhagem de referência (*Pseudomonas* sp. LFM046). A linhagem de referência não foi capaz de utilizar glicerol e muitos dos isolados apresentaram bom desempenho na conversão dessa fonte de carbono em $PHA_{MCL}$. Neste trabalho, pela primeira vez foram detectadas bactérias capazes de produzir $PHA_{MCL}$ a partir de xilose, representando cerca de 10% da massa seca celular. Com base no sequenciamento do rDNA 16S, estes isolados foram identificados como pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp. Ensaios em biorreator, utilizando o isolado SCU 164, resultou em uma biomassa de aproximadamente 6 g/L, contendo cerca de 11 a 14% de PHA. Na tentativa de obter linhagens bacterianas mais eficientes no consumo deste açúcar, cópias dos genes responsáveis pelo catabolismo (*xylAB*) e metabolismo (*xyl*FGH) de xilose em *Escherichia coli* foram inseridos no isolado SCU 164. As linhagens recombinantes foram analisadas quanto à capacidade do consumo de xilose e a produção de $PHA_{MCL}$. A superexpressão dos genes *xylAB e xylFGH* não levou a melhora no consumo de xilose ou produção de $PHA_{MCL}$.



Palavras-chave: Polihidroxialcanoatos. Carboidratos. Metabolismo. Xilose. *Pseudomonas sp.*

## ABSTRACT

RODRIGUES, K. C. L. **Production of biodegradable elastomers by bacteria isolated from sewage sludge.** 2013. 126 p. Masters thesis (Microbiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Polyhydroxyalkanoates (PHA) are polymers stored intracellularly as a form of reserve, possibly serving as carbon and energy source in cases of nutritional shortage. PHA has attracted industrial interest, since they have thermoplastic properties, are biodegradable and can be synthesized from renewable raw materials. The monomers constituting the PHA can be classified into two groups: short-chain-length monomers, containing 3 to 5 carbon atoms in the chain and medium-chain-length monomers containing from 6 to 16 carbon atoms in the chain. The production of PHA monomers containing medium-chain-length monomers ($PHA_{MCL}$) is made mainly by bacteria belonging to the *Pseudomonas* genus. This study aimed to evaluate the potential of different bacterial isolates regards the $PHA_{MCL}$ production from carbohydrates or glycerol. A total of 39 strains were evaluated. The isolates were unable to efficiently utilize starch, lactose or sucrose to produce these polymers. Although many isolates showed good PHA production from glucose or fructose, their performance was inferior to the reference strain (*Pseudomonas* sp. LFM046). The reference strain was unable to utilize glycerol and many of the isolates showed good performance in converting this carbon source into $PHA_{MCL}$. In this work, bacteria capable of producing $PHA_{MCL}$ representing about 10% of the cell dry weight from xylose were first detected,. These isolates were identified as belonging to the *Pseudomonas* genus after sequencing of their rDNA16S gene. Bioreactor cultures using the isolated SCU 164 resulted in a cell dry weight of about 6 g/L, containing 11-14% of PHA. Aiming to obtain bacterial strains more efficient, copy of those responsible for the catabolism (XylAB) genes and metabolism (xylFGH) xylose genes related to xylose catabolism (*xyl*AB) in *Escherichia coli* were inserted into the isolated SCU 164. The recombinant strains did not presented an improved performance on xylose consumption and PHA production.


Keywords: Polyhydroxyalkanoates. Carbohydrate. Metabolism. Xylose. *Pseudomonas sp.*

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1 -** Microscopia eletrônica de células bacterianas contendo grânulos de PHAs em seu interior.....19
**Figura 2 -** Fórmula química geral dos PHAs.....20
**Figura 3 -** Modelo metabólico genérico para a síntese de PHAs.....23
**Figura 4 -** Ciclo de produção e degradação de PHAs.....26
**Figura 5 -** Metabolismo da Frutose e Glicose .....29
**Figura 6 -** Metabolismo do Glicerol.....30
**Figura 7 -** Metabolismo da Xilose.....33
**Quadro 1 -** Lista dos antibióticos utilizados, sua marca e concentrações.....42
**Figura 8** – Diagrama de funcionamento de um espectrômetro de massas.....46
**Figura 9 -** Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando glicose.....56
**Figura10 -** Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando frutose.....59
**Figura 11 -** Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando glicerol.....63
**Figura 12 -** Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando 15 g/L de Xilose e 1,0 g/L de Sulfato de amônio $(NH_4)_2SO_4$.....65
**Figura 13** – Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ do isolado SCU 164 a partir de xilose em meio mineral com diferentes concentrações da fonte de nitrogênio - $(NH_4)_2SO_4$.....67
**Figura 14** - Teste MALDI-TOF-MS.....70
**Quadro 2 -** Resultados das análises dos halos formados, de acordo com o Manual Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI) de 2011, de antibiograma dos isolados SCU 99, 101 e 164.....72
**Figura 15 -** Produção de PHA a partir de xilose pela linhagem SCU 164. São apresentados os resultados em dois experimentos independentes (A e B).....75
**Figura 16 -** Variação da composição do polímero ao longo dos ensaios em reator pelo isolado SCU 164, utilizando xilose como única fonte de carbono. São apresentados os resultados em dois experimentos independentes (A e B).....76
**Figura 17 -** Consumo de nitrogênio e produção de PHA a partir de xilose pela linhagem SCU 164 em ensaios independentes em biorreator.....77
**Figura 18 -** Consumo de xilose pela linhagem SCU 164 em ensaios independentes em biorreator.....77
**Figura 19 -** Avaliação da superexpressão do gene *xylAB e xylFGH* na produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose.....79

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1 -** Classes de PHA sintases.....24
**Tabela 2 -** Composição de sais minerais em meios de cultura utilizados no biorreator.....43
**Tabela 3 -** Avaliação do crescimento em meio mineral sólido com diferentes fontes de carbono.....49
**Tabela 4 -** Avaliação da produção de PHA em meio mineral sólido com diferentes fontes de carbono após coloração com Sudan Black B.....51
**Tabela 5 -** Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Glicose.....54
**Tabela 6 -** Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Frutose.....58
**Tabela 7 -** Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Glicerol.....61
**Tabela 8 -** Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Xilose e 1 g/L de Sulfato de amônio $(NH_4)_2SO_4$.....64
**Tabela 9 -** Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Xilose e 0,5 g/L de Sulfato de amônio $(NH_4)_2SO_4$.....66
**Tabela 10 -** Produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolados SCU 164 a partir de Xilose, após a inserção dos genes *xyl*AB.....78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

3HA – 3-hidroxiácidos

3HHx – 3-hidroxihexanoato

3HO – 3-hidroxioctanoato

3HD – 3-hidroxidecanoato

3HDd – 3-hidroxidodecanoato

$3HDd\Delta_5$ – 3-hidroxi-5-dodecenoato

AN – Ágar Nutriente

LB – Luria Bertani

CG – Cromatografia Gasosa

CN – Caldo Nutriente

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

MM – Meio Mineral

MSC – Massa seca celular

PHAs – Polihidroxialcanoatos

$PHA_{SCL}$ – Polihidroxialcanoatos contendo monômeros de cadeia curta

$PHA_{MCL}$ – Polihidroxialcanoatos contendo monômeros de cadeia média

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO** ..... **16**
**2 REVISÃO DE LITERATURA** ..... **19**
**2.1 Polihidroxialcanoatos** ..... **19**
**2.2 Síntese de PHAs em bactérias** ..... **21**
**2.3 PHA sintase** ..... **23**
**2.4 Microrganismos produtores de PHAs** ..... **24**
**2.5 Biodegradabilidade** ..... **25**
**2.5 *Pseudomonas*** ..... **26**
**2.6 Produção de PHAs a partir de fontes de carbono alternativas** ..... **27**
*2.6.1 Amido* ..... 28
*2.6.2 Sacarose, Frutose e Glicose* ..... 28
*2.6.3 Glicerol* ..... 30
*2.6.4 Lactose* ..... 31
*2.6.5 Xilose* ..... 31
2.6.5.1 Metabolismo da Xilose ..... 32
**3 OBJETIVOS** ..... **35**
**4 MATERIAIS E MÉTODOS** ..... **36**
**4.1 Microrganismos** ..... **36**
**4.2 Seleção de melhores produtores de biopolímeros** ..... **36**
**4.3 Produção de PHA a partir de carboidratos e glicerol** ..... **37**
**4.4 Composição dos meios de cultura e reagentes utilizados** ..... **37**
*4.4.1 Caldo nutriente (CN) ou ágar nutriente (AN)* ..... 37
*4.4.2 Luria Bertani (LB)* (SAMBROOK; RUSSELL, 2001) ..... 37
*4.4.3 Meio mineral (MM)* (RAMSAY et al., 1990) ..... 37
*4.4.4 Solução estoque Sudan Black B* **(**SCHLEGEL et al.,1970) ..... 38
4.5 Antibiótico utilizado ..... 38
**4.6 Esterilização** ..... **38**
**4.7 Preservação das linhagens bacterianas** ..... **38**
**4.8 Metodologias analíticas** ..... **39**
*4.8.1Massa seca celular* ..... 39
*4.8.2 pH* ..... 39
*4.8.3 Concentração de carboidratos* ..... 39
*4.8.4 Teor e composição de PHAs* ..... 39

**4.9 Identificação dos isolados através da análise do gene rRNA 16S ..... 40**
*4.9.1 Extração do DNA* .....40
*4.9.2 Purificação dos fragmentos de PCR* .....41
*4.9.3 Reação de Sequenciamento do gene rDNA 16S*.....41
**4.10 Antibiograma..... 41**
**4.11 Produção de $PHA_{MCL}$ em biorreator a partir de Xilose..... 42**
**4.12 Manipulações de DNA..... 43**
*4.12.1 Construção de linhagens recombinantes do isolado SCU 164* .....43
**4.13 Cálculo para eficiência máxima teórica de síntese de $PHA_{MCL}$ (YMÁX.)..... 44**
**4.14 Análise estatística ..... 45**
**4.15 Análises utilizando a técnica MALDI-TOF-MS..... 45**
**5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....47**
**5.1 Avaliação qualitativa do crescimento e produção de PHAs a partir de diferentes fontes de carbono ..... 48**
**5.2 Produção de $PHA_{MCL}$ em frascos agitados ..... 52**
*5.2.1 A partir de Amido*..... 52
*5.2.2 A partir de Glicose* .....52
*5.2.3 A partir de Frutose*.....56
*5.2.4 A partir de Glicerol* .....60
*5.2.5 A partir de Xilose* .....63
**5.3 Sequenciamento do rDNA 16S..... 68**
**5.4 Técnica MALDI-TOF-MS ..... 69**
**5.5 Produção de $PHA_{MCL}$ em biorreator a partir de Xilose ..... 73**
**5.6 Construção de linhagens recombinantes do isolado SCU 164 abrigando os genes *xyl* AB e *xyl*FGH ..... 77**
**6 CONCLUSÕES.....80**
**REFERÊNCIAS*.....81**
**APÊNDICES.....90**
**APÊNDICE A** - Apresentação dos resultados obtidos nos experimentos quantitativos da produção de Polihidroxialcanoatos.
**APÊNDICE B** - Múltiplo alinhamento de sequências do rDNA 16S utilizando primer 27F dos isolados SCU 99, 101 e 164.
**APÊNDICE C** - Resultados obtidos após teste de difusão em ágar – Antibiograma, realizado nos isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164.

# 1 INTRODUÇÃO

A evolução da humanidade, desde suas origens, está intimamente ligada à capacidade do homem em criar alternativas constantes para garantir sua sobrevivência e melhorar sua qualidade de vida. Neste aspecto, é possível observar os grandes avanços nas áreas da ciência e tecnologia, saúde, transportes, entre outros. Grande parte das mudanças ocorridas até hoje, se deve à disponibilidade de materiais adequados, que transformaram brilhantes idéias, em realidade. Se analisarmos a história humana, identificaremos períodos designados pelos materiais disponíveis no momento; caracterizando as diversas idades históricas, como a idade da Pedra, do Bronze e do Ferro (MORAWETZ, 1995).

O século XX é caracterizado por diversas mudanças realizadas pelo homem devido à crescente e ampla utilização do petróleo para suprir necessidades energéticas e de materiais. Um bom exemplo dessa verdadeira revolução em nossa sociedade é o uso dos polímeros de origem petroquímica. Materiais como, fibras sintéticas, e os diversos tipos de borrachas e plásticos, revolucionaram o desenvolvimento de muitos setores, particularmente considerando-se na área automotiva, de manufaturas e aplicações nas ciências médicas. É possível que em um futuro próximo, o atual período seja conhecido como a Idade dos polímeros; e tal denominação não será grande absurdo, uma vez que, materiais poliméricos de origem petroquímica são essenciais para a manutenção do estilo de vida atual (HAGE, 1998).

Contudo, apesar de sua grande contribuição para a sobrevivência e melhora na qualidade de vida, em função de seu reduzido custo e grande solidez, o amplo uso de plásticos de origem petroquímica, é responsável por sérios problemas de ordem ambiental, pois necessitam de longo período de tempo para sua degradação, permanecendo no meio ambiente como contaminantes, prejudicando a sobrevivência de muitas espécies (KHANNA; SRIVASTAVA, 2005; LUENGO et al., 2003).

Na tentativa de minimizar este problema, a busca por materiais que possam substituir os plásticos de origem petroquímica, tem sido foco de estudo em todo mundo, e, no Brasil, o impulso para este estudo ocorreu no início da década de 90 (SILVA et al., 2007), onde pesquisas têm sido realizadas na tentativa de desenvolver plásticos biodegradáveis, materiais rapidamente biotransformados quando dispostos no ambiente, pela ação de microrganismos de ocorrência natural, entre eles fungos, bactérias e algas; e que aliados a propriedades similares aos plásticos convencionais. Outra característica que aumenta o interesse nesses materiais biodegradáveis é o fato de poderem ser produzidos a partir de fontes de carbono

renováveis (GOMEZ; BUENO-NETTO, 2001; KHANNA; SRIVASTAVA, 2005; ROSA et al., 2000).

Entre os polímeros biodegradáveis mais estudados, destacam-se o ácido polilático (PLA), a poli(ε-prolactona) (PCL) e os polihidroxialcanoatos (PHAs) (GOMEZ; BUENO-NETTO, 2001). Neste contexto, os PHAs merecem atenção especial, uma vez que podem ser obtidos a partir de diversas fontes renováveis de carbono. As propriedades termo-mecânicas de PHAs podem ser moduladas pela sua composição monomérica, permitindo sua utilização em um grande número de aplicações.

A síntese de PHAs depende de três fatores principais: as vias metabólicas presentes na bactéria, o tipo da PHA sintase bacteriana (enzima responsável pela biossíntese de PHAs) e a fonte de carbono fornecida. A manipulação destes três fatores permite modular a composição destes biopolímeros (REHM, 2003). Com relação a sua composição, os PHAs são constituídos de monômeros que podem ser divididos em dois grupos: os 3HAs de cadeia curta ($3HA_{SCL}$ - do inglês *short-chain-length*), contendo 3 a 5 átomos de carbono na cadeia principal, e os 3HAs de cadeia média ($3HA_{MCL}$ - do inglês *medium-chain-length*), contendo de 6 a 16 átomos de carbono na cadeia principal (STEINBUCHEL; VALENTIN, 1995). Os monômeros de cadeia curta são mais comuns, e podem ser encontrados em PHA produzidos por muitos grupos de bactérias (STEINBUCHEL, 1991), enquanto os PHA contendo monômeros de cadeia média são mais restritos, normalmente encontrados em bactérias do gênero *Pseudomonas* (HUISMAN et al., 1989).

Poli-3-hidroxibutirato (P3HB) foi o primeiro PHA descoberto e certamente é o mais estudado até o momento. A avaliação deste polímero revelou pela primeira vez as propriedades termoplásticas dos PHAs (BAPTIST, 1962). Ao longo dos anos 1980, diversos co-monômeros foram incorporados ao P3HB permitindo diversificar suas propriedades termomecânicas (FENG et al., 2002). Também na década de 1980, foi observado o acúmulo de PHA por linhagens de *Pseudomonas* (DE SMET et al., 1983). Estes polímeros apresentavam em sua composição $3HA_{MCL}$ (contendo de 6 a 16 átomos de carbono) e por isso foram denominados PHA contendo monômeros de cadeia média ($PHA_{MCL}$). Enquanto o P3HB e seus copolímeros ($PHA_{SCL}$) são termoplásticos com alta cristalinidade, $PHA_{MCL}$ apresentam baixa cristalinidade e propriedades semelhantes à elastômeros. Dessa forma, o espectro de aplicações para $PHA_{MCL}$ é bastante diferente das aplicações para P3HB e seus copolímeros. As aplicações para $PHA_{MCL}$ incluem: a confecção de filmes de recobrimento (DE KONING et al., 1997); agentes ligantes em formulações de tintas a base de água (VAN DE WALLE et al., 1999); como fontes de monômeros quirálicos para a síntese de compostos

ativos (EUGENIO et al., 2010; O'CONNOR et al., 2005; WITHOLT; KESSLER, 1999), como suporte para engenharia de tecidos e implantes médicos temporários (KIM et al., 2007; MISRA et al., 2006; WANG et al., 2002; ZINN et al., 2001) e ainda como dispositivos de liberação controlada de fármacos (KABILAN et al., 2012).

A capacidade de bactérias do gênero *Pseudomonas* produzir $PHA_{MCL}$ está relacionada com o tipo de PHAs sintases presentes nestas bactérias, aos quais apresentam maior especificidade por monômeros $HA_{MCL}$ (STEINBUCHEL; VALENTIN, 1995). Entretanto, a capacidade de *Pseudomonas* direcionar intermediários do metabolismo de ácidos graxos (β-oxidação ou biossíntese) para biossíntese de PHA, também é importante para estabelecer esta capacidade nestas bactérias. Quando ácidos graxos são utilizados como fonte de carbono, estes são metabolizados pela β-oxidação e os intermediários direcionados para biossíntese de PHA. Carboidratos, por outro lado, são convertidos a acetil-CoA e os monômeros gerados na via de biossíntese de ácidos graxos.

Muitos dos trabalhos realizados até o momento utilizam diversas fontes de carbono, tais como: hidrocarbonetos (PREUSTING et al., 1991), ácidos graxos (RAMSAY et al., 1991) e óleos vegetais (EGGINK et al., 1995) para a produção de $PHA_{MCL,}$ enquanto a produção a partir de carboidratos foi pouco explorada.

Gomez (2000) demonstrou, ao contrário do proposto por outros autores, que o uso de carboidratos ou ácidos graxos deve levar a custo semelhante de produção. O uso de carboidratos ou glicerol para a produção de $PHA_{MCL}$ é especialmente interessante no Brasil, pois temos à disposição importantes resíduos contendo essas fontes de carbono. Glicerol é o principal resíduo do processo de produção do biodiesel (SILVA et al., 2010). Sacarose é o principal açúcar na cana e glicose e frutose são obtidos pela sua hidrólise (GOMEZ, 2000). Amido é o principal resíduo do processamento da mandioca e outros tubérculos (COSTA et al., 2009). Lactose é o principal resíduo no soro de leite (FONSECA et al., 2008). A utilização de xilose proveniente da hidrólise do bagaço de cana para a geração de bioprodutos pode ser fundamental para viabilizar o processo de produção de etanol de segunda geração (DIAS et al., 2010).

Bactérias produtoras de $PHA_{MCL}$ despertam ainda interesse, pois são capazes de gerar monômeros $HA_{MCL}$. Desta forma, a expressão de genes de PHA sintase com maior especificidade por monômeros $HA_{SCL}$ permite a produção de copolímeros P3HB-*co*-$3HA_{MCL}$ (CHEEMA et al., 2012; GOMES, 2009) que apresentam propriedades semelhantes ao polietileno de baixa densidade, podendo inclusive substituí-lo em algumas aplicações (NODA et al., 2005).

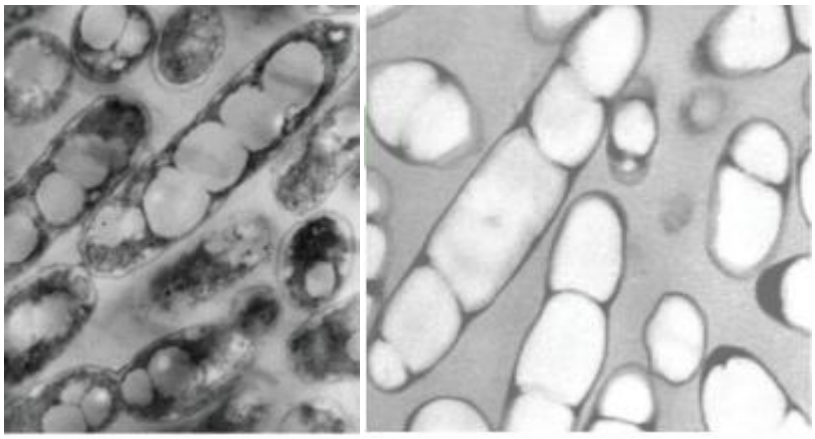
# 2 REVISÃO DE LITERATURA

## 2.1 Polihidroxialcanoatos

A primeira observação de grânulos de polihidroxialcanoatos ocorreu em 1926 por Lemoige, em uma linhagem de *Bacillus megaterium* (LEMOIGNE, 1926), e desde então foram descritos mais de 300 gêneros de bactérias capazes de produzir polihidroxialcanoatos (DIAS et al., 2006; STEINBUCHEL; HEIN, 2001), seu armazenamento ocorre na forma de grânulos intracelulares, o que permite sua utilização como material de reserva de carbono e fonte de energia (ANDERSON; DAWES, 1990).

Os polihidroxialcanoatos podem ser definidos como uma grande família de poliésteres produzidos e armazenados por diversos microrganismos, sob a forma de grânulos intracelulares no citoplasma, variando entre 0,2 e 0,5 μm de diâmetro (Figura 1), são facilmente observados em microscópio (KHANNA; SRIVASTAVA, 2005; STEINBÜCHEL; VALENTIN, 1995).

**Figura 1** – Micrografia eletrônica de transmissão de cortes de células bacterianas contendo grânulos de PHAs em seu interior.

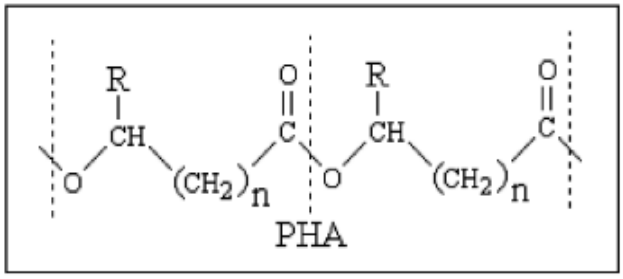


Micrografia eletrônica de células de *Ralstonia eutropha* após acúmulo de polímero na forma de grânulos.
FONTE: (TAGUCHI; DOI, 2004)

As propriedades dos PHAs permitem que sejam utilizados como plásticos biodegradáveis, podendo substituir os plásticos convencionais em diversas aplicações, como: filmes de recobrimento (DE KONING et al., 1997), aparatos médicos (KIM et al., 2007; MISRA et al., 2006; WANG et al., 2002; ZINN et al., 2001), aditivos para tintas (VAN DE WALLE et al., 1999) e como dispositivos de liberação controlada de drogas (KABILAN et

al., 2012). As propriedades do polímero e sua composição monomérica definem suas aplicações, ou seja, as propriedades dos PHAs permitem a obtenção de materiais que podem ser rígidos, como o P3HB, a materiais mais flexíveis, como o $PHA_{MCL,}$ o qual pode apresentar uma grande fração de monômeros insaturados (GOMEZ, 2000). A fórmula geral dos PHAs pode ser observada na Figura 2.

**Figura 2** – Fórmula química geral dos PHAs.




Fórmula química geral dos PHAs, n pode variar de 1 a 3. Quando o grupo R for igual a H, $CH_3$, $CH_2CH_3$, para n=1, os PHA são classificados como $PHA_{SCL}$ ("short chain lenght"), é composto por monômeros de cadeia curta. Quando R=$(CH_2)_2$ $CH_3$ a $(CH_2)_8$ $CH_3$, os monômeros são considerados de cadeia média ("medium chain length" – $PHA_{MCL}$).
FONTE: (GOMEZ; BUENO-NETTO, 2001)

Atualmente, mais de 150 monômeros diferentes já foram descritos como constituintes da grande classe de PHAs bacterianos, possuindo as mais diversas combinações, que incluem monômeros saturados e insaturados, grupos funcionais na cadeia lateral (aromáticos, por exemplo) e o grupo hidroxila em diferentes posições (STEINBÜCHEL; VALENTIN, 1995).

Bactérias acumulam PHA de forma mais expressiva quando há condições desbalanceadas de crescimento, ou seja, na presença do excesso da fonte de carbono, e ausência de algum nutriente essencial, como magnésio, nitrogênio ou fósforo; tal restrição irá limitar a multiplicação celular, mas favorece o acúmulo de PHA (BRANDL et al., 1990). Estes grânulos chegam a atingir até 80% da massa seca celular, e servirão como fonte de energia, carbono e equivalentes redutores, permitindo assim, o crescimento celular (ANDERSON; DAWES, 1990; JENDROSSEK, 2009). Essas inclusões citoplasmáticas podem ser degradadas por enzimas denominadas despolimerases intracelulares.

Poli-3-hidroxibutirato (P3HB) foi o primeiro PHA descoberto e certamente é o mais estudado até o momento, pois é o mais encontrado em bactérias. A avaliação deste polímero revelou pela primeira vez as propriedades termoplásticas de PHA, sendo que em 1962 foram publicadas as primeiras patentes (BAPTIST, 1962). Neste mesmo período, a busca pelo

desenvolvimento de PHA foi aumentada, pelo fato de serem gerados a partir de matérias primas renováveis e poder substituir os polímeros de origem petroquímica, como o polietileno, na fabricação de embalagens, por exemplo. O primeiro empreendimento para produção de P3HB foi realizado pela empresa Grace & Co. A Imperial Chemical Industries retomou os estudos de produção de P3HB na década de 70 e no início dos anos 80 depositou patente sobre a produção do copolímero P3HB-co-3HV (poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato). Estes produtos foram comercializados com a marca industrial Biopol. Na Alemanha, o Biopol foi utilizado para produzir frascos de shampoo para a indústria de cosméticos Wella na década de 1990 (BRAUNEGG et al., 1998).

No Brasil, o início dos estudos do processo de produção de PHAs ocorreu no início da década de 90, quando o laboratório de Biotecnologia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT), juntamente com o Centro de Tecnologia da Coopersucar e o Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, deram início ao projeto "Produção de plásticos biodegradáveis a partir de cana-de-açúcar, por via biotecnológica" (SILVA et al., 2007). Atualmente no Brasil, a empresa PHB industrial (BIOCYCLE) é produtora de polihidroxialcanoatos.

O interesse comercial por este polímero vem crescendo no país, uma vez que o território brasileiro é rico na produção de fontes de carbono renováveis pela agricultura, como o amido, a sacarose e os derivados do bagaço de cana-de-açúcar, e será maior se, principalmente, a produção para o etanol de segunda geração for estabelecida (LOPES, 2010; RAICHER, 2011).

## 2.2 Síntese de PHAs em bactérias

A síntese e incorporação dos diversos monômeros já descritos dependem do fornecimento de um substrato adequado, que possa ser convertido no hidroxiacil-CoA desejado, através das vias metabólicas existentes na célula bacteriana.

O P3HB é produzido por espécies pertencentes a diferentes grupos bacterianos, incluindo *Burklolderia* sp. (ROCHA et al., 2008), *Bacillus* sp., (LOPES et al., 2010) entre outros. O P3HB apresenta-se como um material duro e quebradiço, sendo seu alongamento para ruptura em torno de 5%, o que acaba por limitar sua utilização em diversas aplicações (SUDESH et al., 2000; TAJALI; ROY, 2010).

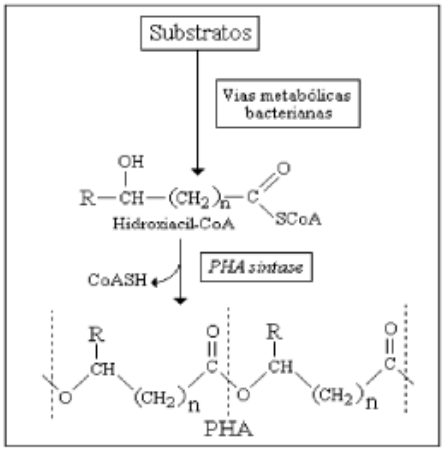
A síntese de P3HB, a partir do catabolismo de carboidratos, por exemplo, ocorre a partir da condensação de duas moléculas de acetil-CoA, catalisada pela enzima β-cetotiolase

(PhaA) (SLATER et al., 1998), em seguida, acetoacetil-CoA é reduzida a 3-hidroxibutiril-CoA pela ação de uma 3-cetoacil-CoA redutase NADPH dependente (PhaB) e finalmente os monômeros hidroxibutiril-CoA são incorporados a cadeia polimérica em formação pela ação da enzima PHA sintase (PhaC), seguido da liberação de uma molécula de Coenzima A (ALDOR; KEASLING, 2003). A incorporação de outros monômeros $HA_{SCL}$ é obtida, geralmente, com o fornecimento de precursores estruturalmente relacionados a esses monômeros, como por exemplo, o ácido valérico para a incorporação de monômeros 3HV (STEINBÜCHEL, 1991).

A síntese de $PHA_{MCL}$ é dividida em duas categorias. A síntese do polímero é dependente da fonte de carbono disponível, e no geral, são feitas referências às fontes de carbono como relacionadas ou não-relaciconadas (GOMEZ, 2000). As fontes de carbono ditas relacionadas geram monômeros de hidroxialcanoatos com estrutura similar à sua; já as fontes não relacionadas geram monômeros com estruturas diferentes da sua. A síntese de $PHA_{MCL}$ pode ocorrer a partir de fontes de carbono estruturalmente relacionadas aos monômeros, como: ácidos graxos, alcoóis, alcanos; e de outras fontes não relacionadas estruturalmente, que é o caso dos carboidratos. Com o uso de ácidos graxos, ele é metabolizado através da β-oxidação de ácidos graxos (BRANDL et al., 1990). A síntese de $PHA_{MCL}$ a partir de carboidratos, que é uma fonte não relacionada, inicia-se com a formação de acetil-CoA, que é utilizado na biossíntese de ácidos graxos gerando intermediários que irão compreender os monômeros (HAYWOOD et al., 1990). Neste caso, o direcionamento é catalisado pela enzima 3-hidroxiacil-CoA:ACP transacilase (REHM et al., 1998). Os PHAs contendo monômeros de cadeia média são produzidos por *Pseudomonas* e são considerados elastômeros, pois apresentam valores de alongamento para ruptura superior a 1000% (STEINBÜCHEL, 2003).

Na Figura 3, observa-se um modelo metabólico genérico, no qual os três principais fatores para a produção de PHAs são apontados.

**Figura 3** – Modelo metabólico genérico para a síntese de PHAs.




Modelo metabólico genérico para a síntese de PHA, no qual os três principais fatores para a produção de PHA estão apontados (substrato, vias metabólicas bacterianas e a PHA sintase).
FONTE (GOMEZ; BUENO NETTO, 2001).

A combinação de P3HB e monômeros de $HA_{MCL}$ gera copolímero híbrido, estes possuem propriedades mecânicas melhores, uma vez que, esta hibridização, permite um aumento da maleabilidade e resistência do polímero (NODA et al., 2005).

## 2.3 PHA sintase

A enzima PHAs sintase é um componente chave na incorporação dos monômeros hidroxiacil- CoA na formação da cadeia polimérica (REHM, 2003). A partir delas, são definidos dois grandes grupos de PHA gerados: $PHA_{SCL}$ que possuem monômeros $HA_{SCL}$ (contendo de 3 a 5 átomos de carbono na cadeia principal) e o $PHA_{MCL}$ que contêm monômeros $HA_{MCL}$ (contendo de 6 a 16 átomos de carbono na cadeia principal) (STEINBÜCHEL, 1995). $PHA_{SCL}$ são encontrados em diversos grupos bacterianos, já os $PHA_{MCL}$ são produzidos principalmente por diferentes espécies do gênero *Pseudomonas* (STEINBÜCHEL, 1991). Algumas espécies bacterianas já foram descritas como capazes de acumular tanto $HA_{SCL}$ como $HA_{MCL}$ em uma mesma cadeia polimérica (MENDONÇA, 2009; VALENTIN et al., 1994).

As PHAs sintases são divididas em 4 classes (STEINBÜCHEL; VALENTIN, 1995), sendo classificadas de acordo com sua estrutura primária e por sua especificidade pelo substrato. A Tabela 1 apresenta as principais características das classes de PHA sintases conhecidas.

**Tabela 1** – Classes de PHA sintases.

| Classe | Subunidades | Espécies | Substrato |
|---|---|---|---|
| I | PhaC ~60-73 kDa | *Ralstonia eutropha* | $3HA_{SCL}$-CoA (~ $C_3$ a $C_5$) $4HA_{SCL}$-CoA $5HA_{SCL}$-CoA, $3MA_{SCL}$-CoA |
| II | PhaC ~60-65 kDa | *Pseudomonas aeruginosa* | $3HA_{MCL}$-CoA (~ $\geq C_5$) |
| III | PhaC – PhaE ~40 kDa ~40kDa | *Allochromatium vinosum* | $3HA_{SCL}$-CoA $3HA_{MCL}$-CoA (~$C_6$-$C_8$) 4HA-CoA, 5HA-CoA |
| IV | PhaC – PhaR ~40kDa ~22kDa | *Bacillus megaterium* | $3HA_{SCL}$-CoA |

FONTE: (REHM, 2003).

PHA sintases de classe I apresentam especificidade por $HA_{SCL}$, são encontradas em diversas bactérias (sendo *Ralstonia eutropha* a mais estudada), formadas por um único tipo de unidade polipeptídica (PhaC) e raramente incorporam $HA_{MCL.}$

PHA sintase de classe II são encontradas em espécies de *Pseudomonas*, são formadas por um único tipo de unidade polipeptídica (PhaC), possuem especificidade por $HA_{MCL}$ e dificilmente incorporam $HA_{SCL}$ (REHM, 2003).

PHA sintase de classe III possuem especificidade para $HA_{SCL,}$ são constituídas por duas subunidades polipeptídicas: a subunidade PhaC que contém uma sequência de aminoácidos com similaridade de 21 a 28% em comparação a PHA sintases da classe I e II, e a subunidade PhaE que não possui nenhuma similaridade com outras PHA sintases. Enzima da classe III é encontrada em *Allochromatium vinosum*. (STEINBUCHEL and HEIN, 2001).

PHA sintase de classe IV são encontradas em bactérias do gênero *Bacillus sp*, são constituídas de duas subunidades polipeptídicas como a sintase de classe III, mas neste caso, ocorre a substituição da subunidade PhaE por PhaR (MCCOOL; CANNON, 1999).

## 2.4 Microrganismos produtores de PHAs

Atualmente, diversos procariotos foram detectados como produtores de PHAs (DIAS et al., 2006). Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas; bem como Arquéias são capazes de produzir PHA. Estes microrganismos podem ser divididos em dois grupos. No primeiro grupo, estão os que requerem a limitação de algum nutriente para produzir o polímero, neste caso tem-se como exemplo a *Ralstonia eutropha***.** O segundo grupo, já acumula o polímero

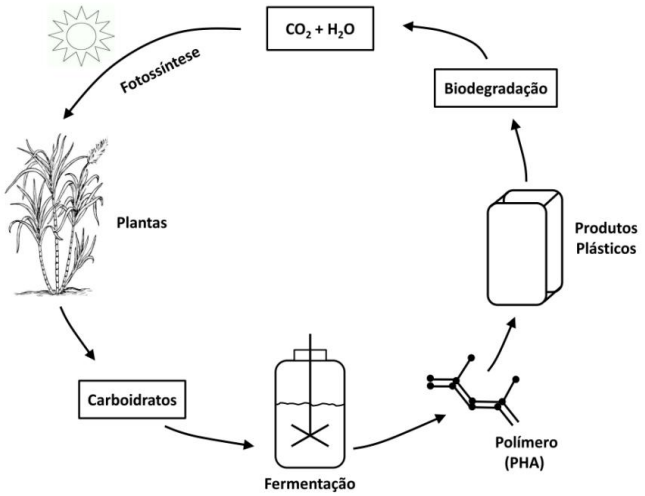
durante sua fase de crescimento, *E. coli* e *Alcaligenes lattus*, são pertencentes a este grupo (LEE, 1996b).

Diferentes pesquisas estão sendo realizadas na bioprospecção de novos microrganismos produtores de PHAs. Os mais diversos ambientes têm sido foco de grandes análises na tentativa de se buscar organismos com características mais adequadas para a produção dos bioplásticos (SINGH; PARMAR, 2011). Microrganismos isolados de lodo de esgoto (MATSUDA, 2009; PEIXOTO, 2008), microrganismos isolados de solo (GOMEZ et al., 1996; LÍCIO, 2011), manguezais (LOPES et al., 2009), cela de compostagem de zoológico (BUSCARIOLLO, 2013) entre outros ambientes, têm sido foco dos mais diversos estudos.

## 2.5 Biodegradabilidade

Um dos principais atrativos dos PHAs é o seu reduzido tempo de degradabilidade em ambientes naturais, ocasionado pela presença de microrganismos nestes ambientes. Algumas bactérias produzem enzimas PHA despolimerases e oligômero hidrolases, que quebram os polímeros em monômeros que podem ser então utilizados pelos microrganismos decompositores como fonte de carbono (BUSCARIOLLO, 2013; MARTINEZ et al., 2012; ROSA et al., 2000). A taxa de degradação do polímero depende de diversos fatores, tais como pH, umidade, temperatura, entre outros. As características peculiares destes biopolímeros destacam seu potencial como matéria prima para indústria, principalmente no que diz respeito à substituição do plástico convencional, por material plástico biodegradável, estes quando degradados são convertidos em dióxido de carbono e água no meio ambiente (GOMEZ; BUENO-NETTO, 2001 – Figura 4).

**Figura 4** – Ciclo de produção e degradação de PHAs.




Fluxos de carbono em sistema cíclico, produção e degradação de plásticos biodegradáveis a partir de matérias-primas renováveis.
FONTE: adaptada (PHB INDUSTRIAL- BIOCYCLE, 2013)

## 2.5 *Pseudomonas*

O gênero *Pseudomonas* é um grupo bastante amplo, que abrange uma grande diversidade de bactérias, com grande distribuição na natureza. É encontrada no solo, na água, em plantas e animais (WANG et al., 2010). Essa diversidade do gênero sugere uma grande riqueza genética e adaptativa (KILL et al., 2008). Dentre as espécies deste gênero, podemos destacar a espécie mais conhecida e temida, *Pseudomonas aeruginosa*.

*Pseudomonas* é o gênero incluído nas γ-proteobactérias pertencente à família das *Pseudomonadaceae.* São bastonetes encapsulados, Gram-negativos, facultativos, que podem ser móveis por flagelos polares ou imóveis. As exigências nutricionais são mínimas e o organismo pode crescer em uma ampla variedade de substratos orgânicos. Embora possa colonizar os seres humanos saudáveis sem causar doença, é também um patógeno oportunista significativo e uma grande causa das infecções hospitalares (HARVEY et al., 2008). *P. aeruginosa* causa regularmente pneumonia hospitalar, infecções hospitalares do trato urinário, infecções cirúrgicas, infecções por queimaduras graves, entre outros.

*Pseudomonas aeruginosa* é também conhecida pela capacidade de sintetizar muitos compostos de interesse industrial, como enzimas, biossurfactantes (ramnolipídeos, viscosina), homo-serina lactonas e polímeros de estoque intracelular, como polihidroxialcanoatos – PHA (COSTA et al., 2009).

Muitas bactérias do gênero *Pseudomonas* são capazes de produzir polihidroxialcanoatos contendo monômeros de cadeia média (HONNA, 2013; PREUSTING et al., 1991; REHM, 2008).

Embora *P. aeruginosa* seja considerada um patógeno oportunista, sendo classificada por isso no grupo de risco 2, muitas bactérias deste gênero são classificas no grupo de risco 1. A Classificação alemã de procariotos (Bactéria e Arqueia) em grupos de risco considera que, dentre 122 espécies do gênero *Pseudomonas*, apenas 8 são classificadas no grupo de risco 2 e 114 no grupo de risco 1 (BAUA, 2013). De acordo com a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio, 2013), o grupo de risco 1 compreende microrganismos que não causam agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente; o grupo de risco 2 compreende microrganismos com moderado risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha baixo risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente.

## 2.6 Produção de PHAs a partir de fontes de carbono alternativas

O uso de fontes de carbono alternativas, como: óleos usados, glicerol, melaço de cana, bagaço da cana, resíduos da produção de queijo, batata e mandioca, compõe uma importante estratégia para facilitar o desenvolvimento da produção industrial de PHAs, reduzindo assim os custos de produção (NEVES, 2009; TORTAJADA et al., 2013).

A produção de PHA tem sido extensivamente estudada em vários microrganismos selvagens e por cepas recombinantes e, apesar de os PHAs serem em um futuro próximo, um dos possíveis substituintes dos polímeros derivados do petróleo em algumas aplicações, o maior obstáculo encontrado para a produção e aplicação destes em larga escala é o alto custo do processo de fabricação e o valor elevado da fonte de carbono. O preço de produção de PHA ainda é demasiado elevado para tornar-se um material plástico competitivo (DIAS et al., 2006; LE MEUR et al. 2012).

Assim, uma das características desejáveis para a produção em larga escala de PHAs, é que os microrganismos empregados tenham elevada velocidade específica de crescimento, além de poderem ser cultivados utilizando substratos de baixo custo. No desenvolvimento destes bioprocessos deve-se explorar ao máximo o potencial destas linhagens (MADKOUR et al., 2013; NEVES, 2009; RAMSAY, 1991). Entre os substratos de baixo custo, é possível

destacar como de interesse para o Brasil: o amido, frutose, glicose, lactose, sacarose, xilose e glicerol.

### *2.6.1 Amido*

Visando reduzir os custos da produção de PHAs, a utilização de carboidratos provenientes de fontes renováveis, faz-se importante. O amido, um dos mais baratos e abundantes resíduos do processamento dos principais produtos agrícolas cultiváveis no Brasil, seria um bom candidato a produção de PHAs (FONSECA, 2003). Um exemplo de resíduo que poderia ser amplamente utilizado, que desde muito tempo é citado como monocultura, seria a mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), também conhecida por aipim e macaxeira, amplamente difundida no território nacional, e um dos seis principais produtos agrícolas cultiváveis no Brasil (WHISTLER, 1984; ZORTÉA et al., 2013). Durante a fabricação da farinha de mandioca geram-se aproximadamente 360 litros de manipueira (resíduo líquido) por tonelada de raiz de mandioca processada. O tratamento e os custos de descarte geram um enorme gasto econômico para a indústria farinheira e também um problema de ordem ambiental, uma vez que apresentam elevada concentração de matéria orgânica e o descarte destes polissacarídeos em solos ou em corpos de água favorecem o crescimento de microrganismos aeróbios, que esgotam o oxigênio destes ambientes, levando à morte outros organismos que demandem oxigênio (COSTA et al., 2009; KRUEGER, 2009).

Assim sendo, o uso dos resíduos provenientes da produção dos farináceos no Brasil, para a fabricação de produtos biotecnológicos, seria uma alternativa viável, que contribuiria para a redução nos custos da fabricação do produto final, como no caso dos PHAs, e minimizaria os danos causados ao meio ambiente (COSTA et al., 2009; KRUEGER, 2009).

### *2.6.2 Sacarose, Frutose e Glicose*

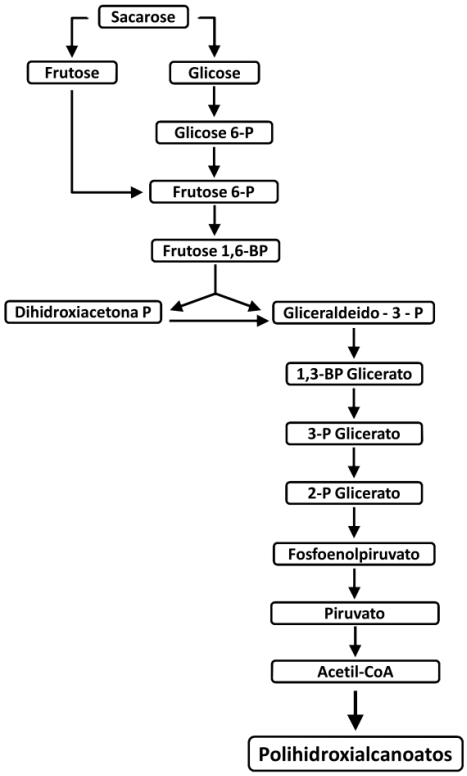
Introduzida no Brasil durante o período colonial, a cana-de-açúcar transformou-se hoje em uma das principais culturas da economia brasileira. Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de açúcar e etanol (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2013). A sacarose é um dissacarídeo formado por glicose e frutose; é um sólido cristalino à temperatura ambiente, que se dissolve em água, e possui sabor adocicado. A sacarose é encontrada em diversas plantas, principalmente em culturas de beterraba e cana-de-açúcar. No Brasil, o

açúcar é obtido através da cana-de-açúcar, que é moída, obtendo-se a garapa, com alto teor de sacarose. Após o aquecimento desta, forma-se o melaço, que contém aproximadamente 40% de sacarose em massa, e a outra parte se cristaliza, formando o açúcar comum. A hidrólise de sacarose gera frutose e glicose, que são utilizadas por diversos seres vivos para obtenção de energia (CAMPBELL, 2000; MUNDO EDUCAÇÃO, 2013).

A produção de $PHA_{MCL}$ foi avaliada a partir de linhagens isoladas de solo de canavial, com carboidratos derivados de cana-de-açúcar. Nenhuns dos isolados bacterianos testados foram capazes de crescer em sacarose como única fonte de carbono, mas foram capazes de fazê-lo a partir da mistura de frutose e glicose. Estes resultados indicam que a produção de $PHA_{MCL}$ a partir destes substratos é possível, desde que a sacarose seja hidrolisada, dando origem a frutose e glicose utilizada pelos microrganismos (GOMEZ, 2000).

Assim, a produção de PHAs a partir de frutose e glicose se torna bastante interessante, uma vez que, o Brasil detém estas fontes de carbono em abundância.

**Figura 5** – Biossíntese de $PHA_{MCL}$ a partir de sacarose, glicose e frutose.



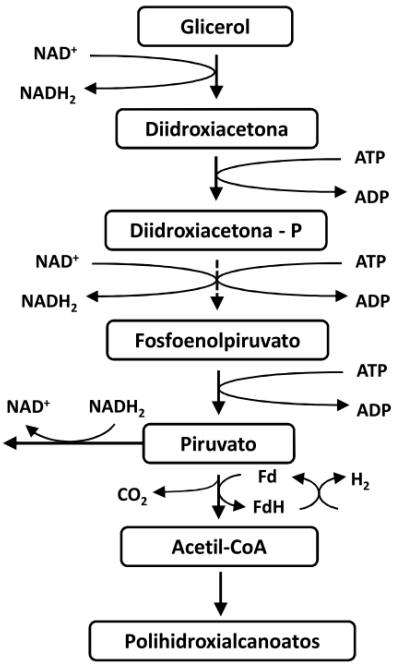

Metabolismo de Frutose e Glicose em bactérias, levando a formação de polihidroxialcanoatos.
FONTE: Adaptada (CASTRO et al., 2013)

*2.6.3 Glicerol*

O glicerol é um poliálcool, presente em diferentes espécies, incluindo protistas unicelulares e mamíferos. Grandes quantidades de moléculas de triaciacilgliceróis podem ser encontradas também em óleos ou azeites, como o de coco, dendê, soja, oliva, bem como gorduras animais, como a banha de porco e sebo (ARRUDA et al., 2006).

Recentemente, o glicerol tem recebido atenção como um potencial substrato, devido à sua acumulação como um sub-produto da síntese de biodiesel, podendo ser assim utilizado como substrato para bioprocessos bacterianos, com a finalidade de obter produtos de alto valor agregado, como os biossurfactantes e os PHAs. Assim, é possível que o glicerol possa substituir os carboidratos utilizados nos bioprocessos. Considerando a crescente necessidade na produção de combustíveis renováveis, estima-se que haverá glicerol em excesso, e este poderá ser utilizado em processos biotecnológicos, agregando valor produtivo para o biodiesel e aos produtos originados a partir desta fonte de carbono (GOMEZ et al., 2012; SILVA et al., 2010; TORTAJADA et al., 2013).

**Figura 6** – Biossíntese de $PHA_{MCL}$ a partir de glicerol.




Metabolismo de Glicerol em bactérias, levando a formação de polihidroxialcanoatos.
FONTE: Adaptada (SHARMA et al., 2012)

### *2.6.4 Lactose*

O soro do leite é o principal subproduto da indústria de laticínios. A lactose é o principal componente do soro do leite, e muitos microrganismos têm capacidade de utilizá-la para seu crescimento.

Dados divulgados pela Embrapa Gado de Leite, afirma que, em 2011, no Brasil, foram produzidos aproximadamente 675 milhões de quilos de queijo (CONAB, 2012). Para cada quilo de queijo produzido são necessários 10 litros de leite, sendo o restante soro, assim, a produção de soro em 2011 foi de aproximadamente 6.075 milhões de litros (ZORTÉA et al., 2013).

A eliminação deste resíduo provoca sérios problemas de ordem ambiental, uma vez que, devido ao grande teor de lactose no ambiente, esgota a quantidade de oxigênio disponível aos seres vivos. Deste modo, a utilização deste resíduo como fonte de carbono para produção de PHAs é muito interessante, uma vez que, torna o excedente não só um desperdício, e sim um valioso recurso (KOLLER et al., 2012).

### *2.6.5 Xilose*

No Brasil, o bagaço de cana-de-açúcar tem se mostrado o resíduo lignocelulósico mais promissor, em razão da crescente produção de cana-de-açúcar no território nacional. O Brasil abriga em 2013, mais de 400 usinas concentradas, principalmente no Estado de São Paulo, e que processam cerca de 600 milhões de toneladas de cana-de-açúcar por ano. Desta parcela, cerca de 30% correspondem ao bagaço, que embora seja queimado para suprir as necessidades energéticas da usina, ainda sobram milhões de toneladas de resíduos, que causam sérios problemas de estocagem e desordem ambiental (MICHELIN RAMOS, 2003).

Em relação às matérias primas disponíveis no Brasil, a cana de açúcar possui uma grande vantagem em relação aos outros países, uma vez que, seu custo de produção é inferior; e em território nacional, a monocultura é cultivada vastamente. Assim, o excedente da cana, o bagaço poderia ser mais bem aproveitado, se fosse utilizado como matéria prima para a geração de combustíveis, como etanol de segunda geração, e de outros produtos biotecnológicos, como os PHAs (DIAS et al.; 2010; NONATO; MANTELATO; ROSSEL, 2001).

O excedente do etanol de segunda geração, feito com a celulose existente do bagaço de cana-de-açúcar, é uma alternativa interessante, para a produção de plásticos

biodegradáveis, uma vez que, o excedente do bagaço é queimado e usado pela própria usina como fonte de energia elétrica ou térmica na forma de vapor; assim, se fosse utilizado para a produção de etanol de segunda geração, não haveria replantio, reduzindo áreas de plantações e conservando áreas de preservação ambiental, e ainda assim, geraria combustível para ser utilizado pela própria usina geradora.

Além da celulose, que libera glicose após sua hidrólise e que se pretende que seja utilizada para a produção de etanol de segunda geração, o bagaço de cana contém também hemicelulose, composta por uma mistura de pentoses e hexoses. A hemicelulose recobre a celulose e, desta forma, seus produtos de hidrólise são liberados antes da glicose. A principal pentose presente na hemicelulose é a xilose. Como as leveduras convencionalmente utilizadas para produção de etanol são incapazes de utilizar xilose como fonte de carbono, a presença da xilose no hidrolisado de bagaço de cana pode comprometer a produção de etanol. Assim, uma alternativa seria considerar o processo de hidrólise em duas etapas, a primeira liberando xilose e a segunda liberando glicose. A xilose obtida como subproduto poderia ser convertida em fonte de carbono para a produção de PHAs (FREIRE, 2013; RAICHER, 2011).

#### 2.6.5.1 Metabolismo da Xilose

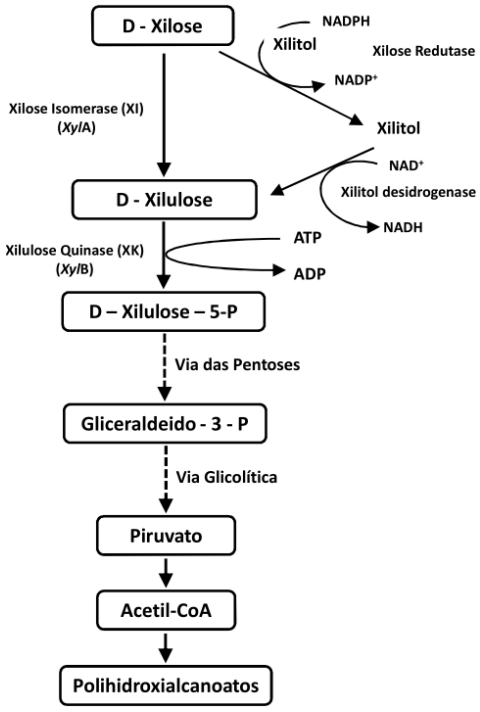
D-xilose é um monossacarídeo composto de cinco carbonos; ela é o segundo mais abundante carboidrato presente na natureza. Até o momento, o metabolismo de xilose já foi descrito em diversos microrganismos, tais como bactérias e leveduras (ERBEZNIK et al., 2004; LE MEUR et al., 2012).

Bactérias que degradam xilose, como *Escherichia coli*, apresentam dois mecanismos para o seu transporte. A xilose livre pode ser transportada por um sistema de baixa afinidade, que é o XylE ou XylT . O outro sistema é o XylFGH, de alta afinidade, no qual Xyl*F* representa uma proteína periplasmática que se liga a xilose com alta afinidade, além de, XylH, uma proteína do tipo permease e XylG uma ATPase, que fornece energia para o processo de translocação de xilose. Assim, XylFGH constitui um sistema de três componentes envolvido no transporte de xilose associado à desfosforilação de ATP (FREIRE, 2013).

Após a xilose ser transportada para o interior da célula, esta sofre ação da xilulose isomerase (xyl A) sendo convertida a xilulose, que então é fosforilada pela ação da xiluloquinase (xyl B), dando origem a xilulose 5-fosfato, que é convertida a gliceraldeído 3-fosfato e frutose 6-fosfato pela via das pentoses. Em leveduras e fungos filamentosos, a formação de D-xilulose a partir de xilose é realizada em duas etapas: inicialmente xilose é

reduzida a xilitol e, em seguida, este é oxidado a xilulose, pela ação, respectivamente, das enzimas xilose redutase e xilitol desidrogenase (JEFFRIES 2006; JIN, 2003). O metabolismo de xilose em bactérias e fungos está representado na Figura 7.

**Figura 7** – Metabolismo da Xilose.




Metabolismo de xilose em bactérias e fungos, levando a formação de polihidroxialcanoatos.
FONTE: Adaptada (RAICHER, 2011; BUSCARIOLLO, 2013).

A utilização de carboidratos presentes em matérias-primas agrícolas ou mesmo resíduos agroindustriais para produção de PHAs representa uma estratégia interessante, pois permitiria a produção destes polímeros a partir de matérias primas renováveis. Esta pode ser uma excelente oportunidade para o Brasil que dispõem de ampla capacidade para geração dessas matérias-primas; considerando que a fonte de carbono utilizada para a produção de PHA é um dos principais fatores que afetam o custo de produção dos biopolímeros, a necessidade de estudos que explorem e aperfeiçoem a produção de PHAs utilizando fontes de carbono de baixo custo, se faz necessário.

Pelo exposto acima, propôs-se no presente trabalho avaliar a produção de $PHA_{MCL}$ a partir de diferentes fontes de carbono em trinta e nove isolados bacterianos. A estratégia abordada envolveu duas etapas: (i) testar qualitativamente o acúmulo de PHA nos trinta e nove isolados, utilizando diferentes fontes de carbono (carboidratos e glicerol); (ii) avaliar quantitativamente a produção de PHA em meio líquido em frascos agitados e calcular os

fatores de conversão da fonte de carbono no produto ($Y_{P/C}$). A partir dos resultados obtidos nessas duas etapas iniciais, foi selecionada linhagem para produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose, essa linhagem foi cultivada em biorreator.

# 3 OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo explorar o potencial de produção de elastômeros biodegradáveis (polihidroxialcanoatos contendo monômeros de cadeia média - $PHA_{MCL}$) a partir de diferentes carboidratos (amido, frutose, glicose, lactose, sacarose e xilose) e um poliálcool, o glicerol.

# 4 MATERIAIS E MÉTODOS

## 4.1 Microrganismos

Neste estudo, foram testados trinta e nove microrganismos isolados a partir de amostras de lodo de esgoto doméstico da Estação de Tratamento de Esgotos do Parque Novo Mundo - SP (MATSUDA, 2009; PEIXOTO, 2008) e do solo da Reserva Florestal da Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira - USP (LÍCIO, 2011). Como controles foram utilizados dois isolados, LFM 046 (*Pseudomonas* sp) caracterizado anteriormente como produtor de PHAs através de glicose e frutose (controle positivo) e LFM461 um isolado que não armazena PHAs (controle negativo) (GOMES, 2009).

## 4.2 Seleção de melhores produtores de biopolímeros

Neste trabalho, 39 isolados foram testados com relação à capacidade de crescer e acumular PHA em diferentes carboidratos como fonte de carbono (amido, frutose, glicose, lactose, sacarose e xilose) e um poliálcool, o glicerol. Nesta etapa de trabalho, os experimentos foram realizados em meio mineral (RAMSAY et al., 1990) sólido contendo cada um dos diferentes carboidratos ou glicerol como única fonte de carbono. A concentração da fonte de carbono e de nitrogênio no meio de cultura foi ajustada de modo a proporcionar condições de crescimento ou produção de PHA. Estes experimentos permitiram uma análise qualitativa dos diferentes isolados.

Cada um dos isolados bacterianos foi estriado em meio mineral sólido contendo 1g/L da fonte de carbono e 1 g/L de sulfato de amônio, concentrações que propiciam o crescimento celular. Após a incubação por 3 dias, a 30 °C, foi avaliado visualmente o crescimento celular.

As linhagens que apresentaram bom crescimento em uma determinada fonte de carbono foram novamente estriadas em meio mineral propício ao acúmulo de PHA, ou seja, contendo excesso da fonte de carbono (5g/L) e limitação na fonte de nitrogênio (0,06 g/L de sulfato de amônio). Após 5 dias de incubação, as colônias foram coradas com o corante lipofílico Sudan Black B ( SCHLEGEL et al.,1970) e avaliadas quanto a produção de PHA. As colônias que continham PHA coraram-se em azul na presença do Sudan Black B.

## 4.3 Produção de PHA a partir de carboidratos e glicerol

Com o objetivo de estabelecer uma análise quantitativa da produção de PHA, foram realizados cultivos em meio líquido em agitador rotativo. Cada um dos isolados bacterianos selecionados foi estriado em ágar nutriente e cultivado por 72 horas a 30 °C. Colônias isoladas foram utilizadas para inocular caldo nutriente e incubadas por 24 horas em agitador rotativo modelo TE-420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 30 °C (150 rpm). Um volume de 1,5 mL da cultura em caldo nutriente foi utilizado para inocular 25 mL de meio mineral (RAMSAY et al., 1990) contendo um dos carboidratos (amido, frutose, glicose, lactose, sacarose e xilose ) ou glicerol em excesso (15 g/L) e limitado na fonte de nitrogênio (1 g/L de sulfato de amônio). As células foram cultivadas em agitador rotativo TE-420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 30 °C (150 rpm), com amostras sendo retiradas após 72 horas de cultivo para ser avaliado: massa seca celular, pH, concentração de carboidratos ou glicerol, teor e composição do polímero produzido.

## 4.4 Composição dos meios de cultura e reagentes utilizados

### *4.4.1 Caldo nutriente (CN) ou ágar nutriente (AN)*

Denominado caldo nutriente quando líquido e ágar nutriente quando sólido:

- ✓ Extrato de carne 3,0g/L
- ✓ Peptona 5,0g/L

### *4.4.2 Luria Bertani (LB)* (SAMBROOK; RUSSELL, 2001)

- ✓ Triptona 10,0 g/L
- ✓ Extrato de levedura 5,0 g/L
- ✓ NaCl 5,0 g/L

### *4.4.3 Meio mineral (MM)* (RAMSAY et al., 1990)

- ✓ $(NH_4)_2SO_4$ 1,0 g/L

- ✓ $Na_2HPO_4$ 3,5 g/L
- ✓ $KH_2PO_4$ 1,5 g/L
- ✓ $MgSO_4$. $7H_2O$ Sol. 20% 1,0 mL/L
- ✓ $CaCl_2.2H_2O$ Sol. 1% 1,0 mL/L
- ✓ Citrato Férrico Amoniacal Sol. 6% 1,0 mL/L
- ✓ Solução de elementos traços 1,0 mL/L

Para a obtenção dos meios de cultura sólidos, foram adicionadas de 15-20 g/L de ágar.

*4.4.4 Solução estoque Sudan Black B* **(**SCHLEGEL et al.,1970)

- ✓ Sudan Black B 0,2 g
- ✓ Etanol 96% q.s.p 1 L

## 4.5 Antibiótico utilizado

O antibiótico Canamicina e Gentamicina (50 µg/mL) foram utilizados para a seleção de linhagens portando o plasmídeo pBBR1MCS-2 e pBBR1MCS-5 (KOVACH et al., 1995) contendo genes clonados.

## 4.6 Esterilização

Os meios de cultura foram esterilizados em autoclave durante 15 minutos a 121 ºC.

## 4.7 Preservação das linhagens bacterianas

Os isolados empregados neste trabalho foram preservados de duas formas. Para a criopreservação foi inoculada uma colônia bacteriana em 25 mL de meio CN ou LB, sendo incubada cada uma das culturas a 30 ºC (150 rpm) por 24 horas. 500 µL da cultura foram misturados a 500 µL de uma solução aquosa de glicerol a 20%. A suspensão de células na solução de glicerol foi distribuída em microtubos de polipropileno (2000 µL), sendo 1000 µL por tubo, e mantida em congelador a 4 ºC por 30 minutos. Após este período, as culturas foram transferidas para o freezer -80 ºC.

Os isolados também foram preservados pelo método de liofilização. As linhagens foram cultivadas em 25 mL de CN ou LB (30 $^{o}$C, 150 rpm). Posteriormente, cada uma das culturas foi centrifugada durante 15 minutos a 4629 *g* (Centrífuga modelo Eppendorf 5804 R) e ressuspensas em sua solução crioprotetora (leite desnatado a 10% e glutamato de sódio a 5%). A suspensão de células foi distribuída em ampolas esterilizadas, sendo posteriormente congeladas e liofilizadas (modelo FreeZone ® Triad Labconco). As células liofilizadas foram seladas a vácuo e estocadas em refrigerador a 4 ºC (SILVA et al., 1992).

## 4.8 Metodologias analíticas

### *4.8.1Massa seca celular*

A massa seca celular foi determinada gravimetricamente após centrifugação (10.600 *g*, 15 minutos, 4 °C) de volume conhecido da cultura e liofilização das células.

### *4.8.2 pH*

O pH foi determinado no sobrenadante, após centrifugação da cultura, em potenciômetro (Tecnal, modelo TEC- 2) utilizando padrões de pH 4,0 e 7,0.

### *4.8.3 Concentração de carboidratos*

As concentrações de carboidratos (frutose, glicose, lactose, sacarose e xilose) e glicerol foram determinadas em HPLC Ultimate 3000 (Dionex, Sunnyvale, CA, Estados Unidos) com detector por Índice de Refração (Shodex, Kawasaki, Kanagawa, Japan) a 35 °C, coluna HPX-87H (Bio-Rad, Hercules, CA, Estados Unidos) a 45 °C, fase móvel $H_2SO_4$ 5 mM com fluxo de 0,6 mL/min. e volume de injeção de 20 µL.

### *4.8.4 Teor e composição de PHAs*

A quantidade e composição de PHAs foram determinadas por cromatografia de fase gasosa de propil-ésteres (RIIS; MAI, 1988), em cromatógrafo gasoso HP7890 GC System (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Estados Unidos) equipado com uma coluna HP-5

(5% fenil-metilsiloxano, comprimento 30 m, diâmetro 0,32 mm, espessura do filme 0,25µm) e com sistema de detecção por ionização de chama (FID).

Cerca de 10 a 15 mg de células liofilizadas foram transferidas para tubos de vidro, aos quais foram adicionados 2 mL de uma solução de ácido clorídrico em propanol ( 1:4 v/v), 2 ml de 1,2 dicloroetano e 100 µl de uma solução de ácido benzóico (40 g/L) em propanol. Os tubos foram fechados fortemente, agitados e submetidos à propanólise por 3 horas a 100 °C, sendo submetidos à agitação após os primeiros 30 minutos. Após o resfriamento, foi adicionado a cada tubo, 4 mL de água destilada, agitando o vigorosamente por 40 segundos. Após a separação das fases, a fase aquosa (superior) foi descartada e fase orgânica (inferior) recuperada para posterior análise. Um volume de aproximadamente 1 µL da fase orgânica foi analisado após o seu fracionamento (1/20).

A análise foi conduzida nas seguintes condições: Temperatura do injetor: 250 °C: Temperatura do detector: 300 $^{o}$C; Sistema de detecção: ionização de chama (FID) para se detectar os propil-ésteres; Programa de temperaturas do forno: 100 °C por 1 minuto, elevação da temperatura até 210 °C a 8 °C/min e 210 °C por 15 minutos. Ácido benzóico foi utilizado como padrão interno. P3HB e P3HB-co-3HV (Aldrich), bem como polímeros produzidos por *P. olevorans* ou *P. putida* oriundos de diferentes fontes de carbono, foram utilizados como padrões, sendo assim utilizados para a geração das várias curvas de calibração. O PHA total foi calculado somando-se as quantidades dos constituintes 3HB (3-Hidroxibutirato), 3HV(3-Hidroxivalerato), 3HHx (3-Hidroxihexanoato), 3HHp (3-Hidroxiheptanoato), 3HO (3-Hidroxioctanoato), 3HN (3-Hidroxinonanoato), 3 HD (3-Hidroxidecanoato) e 3 HDD (3-Hidroxidodecanoato).

## 4.9 Identificação dos isolados através da análise do gene rRNA 16S

### *4.9.1 Extração do DNA*

O DNA genômico das bactérias foi extraído utilizando-se o kit “Wizard Genomic DNA Purification” (Promega, Madison, WI, USA: Cat. A 1120), seguindo as orientações do fabricante. A quantidade de DNA foi aferida por espectrofotômetro NanoVue*Plus* (GE Healthcare – USA).

Os isolados ambientais estudados neste trabalho tiveram o gene rDNA 16S amplificados e sequenciados. As reações de amplificação foram realizadas utilizando

“primers” 27F (5’AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3’) e 1401R (5’ CGGTGTACAAGACCC3’). O volume final da reação foi de 50 µL, contendo Tris-HCl, pH 8,4 (20 mM) e KCl (50 mM); $MgCl_2$ (1,5 mM); dNTP’s (200 µM); DNA genômico (30-50 ng); primers (0,3 µM) e Taq polimerase (2U). A reação de PCR foi realizada por 30-40 ciclos com as seguintes temperaturas: desnaturação inicial de 95 ºC por 45 segundos; temperatura de desnaturação 95 ºC por 20 segundos; anelamento a 49 ºC por 20 segundos; temperatura de extensão a 72 ºC por 3 minutos e temperatura final de extensão a 72 ºC por 5 minutos.

*4.9.2 Purificação dos fragmentos de PCR*

Os produtos amplificados foram purificados utilizando “GFX ™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit” (GE Healthcaare) seguindo instruções do fabricante.

*4.9.3 Reação de Sequenciamento do gene rDNA 16S*

Para caracterização molecular dos isolados e confirmação de suas espécies, os produtos de amplificação rDNA 16S foram sequenciados pelo método de Sanger no Setor de Sequenciamentos de DNA – Centro de Estudos do Genoma Humano, da Universidade de São Paulo.

Por fim, a identidade das sequências de rDNA 16S foi determinada por sua comparação com sequências depositadas no banco de dados GenBank (NCBI), utilizando-se a ferramenta BLAST ( *Basic Local Alignment Search Tool* – USA).

**4.10 Antibiograma**

Este teste foi realizado para avaliar a resistência dos isolados SCU 99, SCU101 e SCU164 a diferentes antibióticos. Foi utilizado o teste de sensibilidade por disco de difusão Kirby-Bauer (BAUER et al., 1966) em ágar Müller-Hinton, de acordo com o Manual Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI) de 2011.

Os isolados SCU 99, SCU101 e SCU 164 foram estriados em placas contendo LB sólido e foram incubados a 30 ºC por 24 horas. Uma colônia foi inoculada em 25 mL de meio LB líquido, e cultivada a 30 ºC por 24 horas. O meio de cultura líquido foi diluído em solução salina (0,85%) até atingir uma absorbância de 0,08-0,1 no comprimento de onda de 625nm.

Com o auxilio de um swab, toda a extensão de uma placa contendo meio sólido de Müller-Hinton foi coberta com o meio de cultura. Com o meio de cultura seco, e com o auxílio de uma pinça estéril, discos contendo diferentes antibióticos foram depositados sobre a placa. As placas contendo antibióticos foram incubadas a 30 ºC por 24 horas. Posteriormente, os resultados foram analisados quanto à presença ou ausência de halos de inibição do crescimento ao redor dos discos. Os diâmetros dos halos foram medidos com o auxílio de uma régua, e os resultados obtidos foram interpretados de acordo com o Manual Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI) de 2011 para *Pseudomonas aeruginosa*. Os diferentes antibióticos utilizados estão listados no Quadro 1.

**Quadro 1 –** Lista dos antibióticos utilizados, sua marca e quantidade.

| Antibiótico usado | Sigla | Marca | Quantidade (µg) |
|---|---|---|---|
| Cotrimoxazol | SUT | Sensifar | 25,0 |
| Piperciclina + Tazobactan | PPT | Sensifar | 110,0 |
| Cefoperazone | CFP | Oxoid | 75,0 |
| Ceftazidima | CAZ | Sensifar | 30,0 |
| Cefepima | CPM | Sensifar | 30,0 |
| Aztreonama | ATM | Sensifar | 30,0 |
| Ticarciclina + Ác. Clavulânico | TIC | Sensifar | 85,0 |
| Ciprofloxacina | CIP | Sensifar | 5,0 |
| Gentamicina | GEN | Sensifar | 10,0 |
| Amicacina | AMI | Sensifar | 30,0 |
| Meropenen | MER | Sensifar | 10,0 |
| Imipenema | IPM | Sensifar | 10,0 |

FONTE: (RODRIGUES, 2013).

### 4.11 Produção de $PHA_{MCL}$ em biorreator a partir de Xilose

Para o cultivo em biorreator foi inicialmente preparado o inóculo que consistiu de três etapas: (i) recuperação de colônias da cultura em Luria-Bertani (LB) sólido por 72 horas a 30 $^{o}$C, (ii) cultivo em LB líquido por aproximadamente 24 horas a 30 $^{o}$C e 150 rpm e (iii) cultivo em meio mineral contendo 10 g/L de xilose e 3 g/L de sulfato de amônio por 24 horas em agitador rotativo (30 $^{o}$C, 150 rpm). A cultura obtida desta forma foi utilizada para inocular o biorreator (BBraun Biostat B - 1500 mL) representando uma fração de inóculo de 10% (150 mL). O cultivo foi conduzido à temperatura controlada em 30 $^{o}$C e o pH a 7,0. Para o controle de pH foram utilizadas soluções de NaOH ou $H_2SO_4$ a 0,5 M. A aeração foi mantida a 1 lpm (aproximadamente 0,67 vvm). A agitação do cultivo foi gradativamente aumentada de forma

a manter o oxigênio dissolvido sempre acima de 40% da saturação. O meio de cultura utilizado no biorreator está listado na Tabela 2. Xilose foi alimentada a partir de uma solução concentrada (200 g/L) sempre que a concentração atingia valores próximos a 5 g/L em quantidade suficiente para repor a concentração inicial (15 g/L). Amostras foram retiradas periodicamente para determinação da concentração de xilose, biomassa total e nitrogênio amoniacal, bem como teor e composição do PHA produzido.

**Tabela 2** – Composição de sais minerais no meio de cultura utilizado nos ensaios em biorreator.

| **Composto** | **g/L** |
|---|---|
| $KH_2PO_4$ | 0,65 |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 3,60 |
| $MgSO_4 . 7H_2O$ | 0,31 |
| $CaCl_2 . 2H_2O$ | 0,01 |
| Citrato Férrico Amoniacal | 0,15 |
| NaCl | 1,00 |
| Elementos traços* | 2,00 mL |

*Solução de elementos traços: $H_3BO_3$ 0,3 g/L, $CoCl_2.6H_20$ 0,2 g/L, ZnSO4.7 $H_2O$ 0,1 g/L. $MnCl_2.4\ H_2O$ 30 mg/L, $NaMoO_4.2H_2O$ 30 mg/L, $NiCl_2.H_2O$ 20 mg/L, $CuSO_4.5H_2O$ 10 mg/L
FONTE: (GOMEZ, 2000)

## 4.12 Manipulações de DNA

### *4.12.1 Construção de linhagens recombinantes do isolado SCU 164*

Os plasmídeos pBBR1MCS-2 contendo os genes *xyl*AB, e pBBR1MCS-5, contendo *xyl*FGH (FREIRE, 2012) foram inseridos separadamente no isolado SCU 164 por eletroporação.

Uma colônia do isolado SCU 164 foi cultivada em meio LB líquido durante 14 horas a 30 ºC em agitador rotativo. Após incubação, a densidade óptica ($DO_{610nm}$) foi determinada e um volume de meio LB foi adicionado ao cultivo celular, para se obter uma $DO_{610nm}$ inicial de 0,1 unidades de absorbância. O cultivo foi então incubado a 30ºC em agitador rotativo, e medições foram feitas até atingir $DO_{610nm}$ = 0,5 – 0,6.

Uma vez atingida à densidade celular requerida, a cultura foi transferida para tubos de polipropileno estéreis e pré-resfriados, e posteriormente foram centrifugadas (20 min a 4000 *g*) a 4 ºC. Após centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e as células foram ressuspensas

em 100 mL de água milli-Q estéril e gelada, centrifugou-se novamente (20 min a 4000 *g*) a 4 ºC. Desprezando o sobrenadante, as células foram ressuspensas em 40 mL de água milli-Q estéril e gelada e centrifugadas sob as mesmas condições descritas acima. Mais uma vez, descartou-se o sobrenadante e as células foram ressuspensas em 5 mL de glicerol a 10% gelado e centrifugadas a 4 ºC por 20 min a 4000 *g*. As células obtidas foram ressuspensas em 1000 µL de glicerol a 10% gelado, distribuídas em alíquotas de 40 µL em tubos de polipropileno (1,5 mL), e conservadas em freezer -80ºC.

Para a transformação das células eletrocompetentes com os plasmídeos contendo os genes *xyl*AB e *xylFGH* foram utilizados 2 µL da reação de ligação do DNA exógeno. A mistura foi transferida para cubetas de eletroporação de 0,1 cm, separadamente, previamente resfriadas. As células foram eletroporadas a pulsos de 2500 V, capacitância de 25 µF e resistência de 200 Ω. Após o choque elétrico, adicionou-se 1,0 mL de meio LB às células, que foram incubadas a 30 ºC, em agitador rotativo. Posteriormente, as células foram semeadas em placas LB contendo antibiótico canamicina e gentamicina, respectivamente, e incubadas a 30 ºC, por 24 horas.

Posteriormente, colônias isoladas foram cultivadas em meio LB líquido contendo canamicina, e foram incubadas por 24 horas em agitador rotativo modelo TE-420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 30°C (150 rpm). Um volume de 1,5 mL da cultura em LB líquido foi utilizado para inocular 25 mL de meio mineral (RAMSAY et al., 1990) contendo xilose e o antibiótico canamicina. As células foram cultivadas em agitador rotativo TE-420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 30 °C (150 rpm), com amostras sendo retiradas após 72 horas de cultivo para ser avaliado: massa seca celular, pH, concentração de carboidratos, teor e composição do polímero produzido.

## 4.13 Cálculo para eficiência máxima teórica de síntese de $PHA_{MCL}$ ($Y_{MÁX.}$)

Inicialmente, foi determinado o fator de conversão global da fonte de carbono no produto ($Y^{G}_{P/C}$) em cada um dos cultivos, considerando o total de PHA produzido pelo total de fonte de carbono consumida. Para se determinar a eficiência máxima para a síntese de PHA com uma composição definida, a partir de uma determinada fonte de carbono, foi necessário determinar os valores máximos teóricos para $Y^{G}_{P/C}$. Esse parâmetro depende do teor de polímero acumulado, bem como da composição deste de acordo com a seguinte equação:

$$Y^{C}_{P/C} = \frac{\%PHA}{\frac{100}{Y_{X_R/C_C}} - \frac{\%PHA}{Y_{X_R/C_C}} + \frac{\%HA_1}{Y_{X_{HA1}/C_{HA1}}} + \frac{\%HA_2}{Y_{X_{HA2}/C_{HA2}}} + \frac{\%HA_3}{Y_{X_{HA3}/C_{HA3}}} \cdots + \frac{\%HA_n}{Y_{X_{HAn}/C_{HAn}}}} \quad \textbf{(Equação 1)}$$

FONTE: (GOMEZ, 2000)

Onde:

$Y_{Xr/Cc}$: fator de conversão da fonte de carbono em biomassa residual ($Y_{Xr/Cc}$), que corresponde à quantidade de biomassa residual ($X_r$) formada a partir de uma quantidade de fonte de carbono utilizada exclusivamente para esta finalidade;

$Y_{HAn/CHAn}$: fator de conversão da fonte de carbono nos diferentes monômeros constituintes de PHA, que corresponde a um determinado monômero produzido ($H_{An}$) a partir de uma fonte de carbono utilizada para esta finalidade ($C_{HAn}$);

Considerou-se que os valores de ($Y_{XR/Cc}$) para as fontes de carbono glicose, frutose e glicerol corresponde a 0,5 g/g. Os valores de $Y_{HAn/CHAn}$ foram determinados considerando o metabolismo de síntese de cada um dos monômeros e correspondem a 0,48; 0,42; 0,39; 0,38; 0,37 e 0,36 g/g, respectivamente, para os monômeros 3HB, 3HHx, 3HO, 3HD, 3HDD e 3HDDΔ5.

O valor de $Y_{MÁX}$ foi obtido dividindo-se o desempenho observado em cada cultura pelo valor máximo estimado e multiplicando-se por 100.

## 4.14 Análise estatística

Os resultados foram expressos com média ± desvio padrão e submetidos à análise de variância de uma única via (ANOVA) seguido pelo teste Bonferroni, quando necessário foi utilizado teste-*t*. As diferenças entre as médias foram avaliadas via programa estatístico (Program Graph Pad Prism v. 5.0). Valores de $P<0,05$ foram considerados significativos.

## 4.15 Análises utilizando a técnica MALDI-TOF-MS

Análises utilizando a técnica do tipo MALDI-TOF-MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight – Mass Spectrometry), foram realizadas em aparelho Voyager DE-PRO Biospectrometry Workstation, marca Apllied Biossystems.

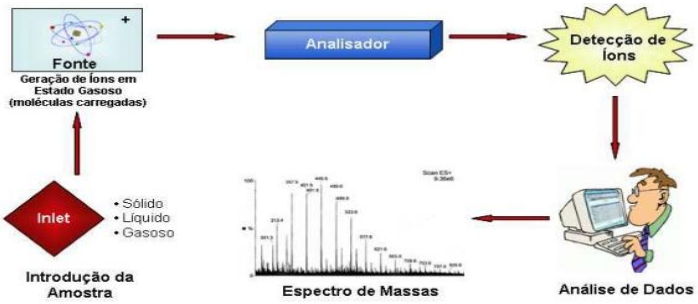



**Figura 8** - Diagrama de funcionamento de um espectrômetro de massas.
Fonte: Apllied Biosystems, 2005.

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados bacterianos com relação à produção de $PHA_{MCL}$ a partir de diferentes fontes de carbono. As fontes de carbono foram selecionadas uma vez que podem ser componentes de importantes resíduos ou mesmo de matérias primas disponíveis em abundância no Brasil. Sacarose é o açúcar de uma das mais importantes culturas agrícolas no país: a cana de açúcar. Glicose e frutose podem ser obtidas pela hidrólise da sacarose (GOMEZ, 2000). Bagaço de cana ou mesmo outros resíduos agroindustriais podem ser utilizados para geração de xilose a partir da hidrólise de material hemicelulósico (RAICHER, 2011). Glicerol é o principal resíduo do processo de produção de biodiesel (SILVA et al., 2010). Lactose é um açúcar presente em soro de leite, um resíduo da indústria de produtos lácteos (FONSECA et al., 2008). Amido, além de ser um importante componente de diferentes produtos agrícolas, também pode estar presente em resíduos de processos de produção de farinhas (COSTA et al., 2009). A avaliação destas fontes de carbono foi realizada em duas etapas: inicialmente foram feitos testes qualitativos de crescimento e produção de PHAs em meios de cultura sólidos, que permitiu avaliar um grande número de isolados em diversas fontes de carbono; a segunda fase consistiu na avaliação quantitativa da produção de PHAs, analisando-se a composição do polímero produzido.

Os PHAs contendo monômeros de cadeia média ($PHA_{MCL}$) foram o alvo central deste trabalho. Este polímero foi selecionado, pois apresenta propriedades claramente diferentes do poli-3-hidroxibutirato e seus copolímeros, atendendo assim os requisitos para aplicações distintas. Além disso, poucos trabalhos têm explorado a produção destes polímeros a partir de carboidratos. Outro fator relevante é que, em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa, foi demonstrada a possibilidade de gerar bactérias recombinantes, com capacidade de produzir PHAs contendo 3HB e $3HA_{MCL}$ a partir de carboidratos, pela expressão de PHA sintases de classe I em mutante de *Pseudomonas* deficiente no acúmulo de $PHA_{MCL}$ (GOMES, 2009). Estes polímeros têm despertado grande interesse, pois apresentam propriedades semelhantes ao polietileno de baixa densidade (NODA et al., 2005), permitindo o seu uso na produção de filmes plásticos.

## 5.1 Avaliação qualitativa do crescimento e produção de PHAs a partir de diferentes fontes de carbono

Neste trabalho, 39 isolados bacterianos foram selecionados para avaliação de crescimento e produção de $PHA_{MCL}$, utilizando diferentes fontes de carbono. A literatura descreve a utilização de glicose, frutose (GOMEZ, 2000) e glicerol (SILVA et al., 2010) como fontes de carbono adequadas para produção deste polímero. Não há descrições da produção de $PHA_{MCL}$ a partir de amido, lactose ou sacarose. Além disso, não há relatos da utilização de xilose como substrato para produção de $PHA_{MCL}$ por linhagens selvagens, as únicas descrições são oriundas de resultados obtidos com linhagens recombinantes (LE MEUR et al., 2012).

Inicialmente, foram realizados testes qualitativos em meio mineral sólido para avaliar o crescimento celular (Tabela 3), em diferentes fontes de carbono (amido, frutose, glicose, lactose, sacarose, xilose e glicerol). A avaliação do crescimento utilizando amido demonstrou que, dos trinta e nove isolados testados, apenas o isolado RMP 1321, apresentou crescimento, contudo de forma reduzida.

Nenhum dos isolados testados foi capaz de crescer em sacarose ou lactose (Tabela 3).

Ao se utilizar xilose como fonte de carbono para o crescimento dos isolados, foi possível observar o crescimento de três diferentes isolados (SCU 99, SCU 101 e SCU 164).

Todos os isolados testados, incluindo os isolados controles (LFM 046 e LFM 461) apresentaram capacidade de crescimento em meio de cultura contendo glicose ou frutose como única fonte de carbono.

Em glicerol, todos os isolados testados, com exceção das linhagens controle LFM 046 e LFM 461, bem como do isolado SCU 304 apresentaram crescimento significativo (Tabela 3).

**Tabela 3 –** Avaliação do crescimento em meio mineral sólido com diferentes fontes de carbono.

| | FONTE DE CARBONO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Isolado** | AMIDO | | | GLICOSE | | | GLICEROL | | | FRUTOSE | | | LACTOSE | | | SACAROSE | | | XILOSE | | |
| **Tempo (horas)** | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| LFM 046 | - | - | - | + | + | + | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| LFM 461 | - | - | - | + | + | + | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| DCL 06 | - | - | - | + | + | + | + | + | ++ | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| DCL 07 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| DCL 08 | - | - | - | + | + | + | + | + | ++ | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| DCL 011 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| DCL 014 | - | - | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| LFM 634 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 851-A | - | - | - | + | + | + | + | + | + | ++ | ++ | ++ | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 1256 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 1305 | - | - | - | + | + | + | ++ | ++ | ++ | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 1315 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 1316 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 1321 | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 1484 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RMP 1486 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| SCU 099 | - | - | - | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | - | - | - | - | - | - | + | ++ | ++ |
| SCU 101 | - | - | - | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | - | - | - | - | - | - | - | ++ | ++ |
| SCU 164 | - | - | - | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | - | - | - | - | - | - | - | ++ | ++ |
| SCU 304 | - | - | - | + | + | + | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 033 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 036 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 045 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 049 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 050 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 055 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 056 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 060 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 080 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 089 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 094 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 095 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 097 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 098 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 101 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 102 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 103 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 130 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 131 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 132 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TSM 133 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Análise de crescimento de diferentes isolados de lodo de esgoto e solo do Campus Universitário, em diferentes fontes de carbono, em meio mineral sólido, após 24, 48 e 72 horas a 30ºC. Crescimento em placa: - nenhum crescimento; + pequeno crescimento; ++ médio crescimento e +++ grande crescimento.
FONTE: (RODRIGUES, 2013)

Os isolados que apresentaram crescimento nas diferentes fontes de carbono testadas (Tabela 3), também foram avaliados sob condições propícias ao acúmulo de PHA (excesso da fonte de carbono e limitação de nitrogênio). A coloração dos isolados com o corante lipofílico Sudan Black B foi utilizada como indicativo de acúmulo de PHAs. Esta estratégia foi empregada na análise das diferentes fontes de carbono testadas. Neste contexto, o isolado LFM 046 foi utilizado como controle positivo, uma

vez que a produção de PHAs, utilizando glicose e frutose por este isolado foi demonstrada anteriormente (GOMEZ, 2000). O mutante LFM 461 (PHA negativo derivado de LFM046) foi utilizado como controle negativo (GOMES, 2009).

A avaliação de amido como substrato demonstrou que o isolado RMP 1321, único que apresentou crescimento nesta fonte de carbono, foi igualmente capaz de armazenar PHAs, demonstrado pela coloração com Sudan Black B, os isolados LFM 046 e LFM 461 não foram capazes de acumular PHAs utilizando amido (Tabela 4).

Considerando que nenhum dos trinta e nove isolados testados apresentaram crescimento em sacarose ou lactose (Tabela 3), não foram realizadas avaliações de acúmulo de PHAs, com estas fontes de carbono.

A avaliação de xilose como substrato para acúmulo de PHAs demonstrou que os isolados SCU99, SCU101 e SCU164, que apresentaram bom crescimento, também foram capazes de acumular PHAs a partir deste substrato; o isolado controle positivo (LFM 046) também não apresentou o acúmulo de PHAs com esta fonte de carbono. Como esperado, o controle negativo (LFM 461) não foi capaz de acumular PHAs em xilose (Tabela 4).

As análises de glicerol como fonte de carbono para acúmulo de PHAs demonstraram que a maioria dos isolados foram capazes de armazenar biopolímeros utilizando este composto como substrato, a exceção foi observada no isolado controle positivo (LFM 046), ao qual já havia sido demonstrada sua ineficiência em acumular PHAs a partir de glicerol (SILVA-QUEIROZ et al., 2009) e no isolado controle negativo (LFM 461). O isolado SCU304 não foi testado, pois não apresentou capacidade de crescimento em glicerol (Tabela 3). Estes dados destacam o glicerol como um potencial substrato para produção de PHAs nos isolados testados.

O acúmulo de PHAs utilizando glicose e frutose como substratos ocorreu na maioria dos isolados testados. Como esperado, a linhagem controle positivo LFM 046 foi capaz de acumular PHAs, fato novamente não observado no isolado controle negativo (LFM 461). Glicose demonstrou ser um ótimo substrato para acúmulo de PHAs, pois além do controle negativo, apenas o isolado RMP 1305 não apresentou capacidade de acúmulo. Os resultados obtidos com frutose como substratos foram inferiores aos observados em glicose, mais ainda sim promissores, dos trinta e nove isolados utilizados, apenas onze isolados testados e o controle negativo, não apresentaram capacidade de acúmulo de PHAs.

**Tabela 4 –** Avaliação da produção de PHA em meio mineral sólido com diferentes fontes de carbono após coloração com Sudan Black B.

| | FONTE DE CARBONO | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Isolado** | AMIDO | GLICOSE | GLICEROL | FRUTOSE | XILOSE |
| LFM 046 | - | + | - | + | - |
| LFM 461 | - | - | - | - | - |
| DCL 06 | NA | + | ++ | + | NA |
| DCL 07 | NA | + | + | + | NA |
| DCL 08 | NA | + | ++ | + | NA |
| DCL 011 | NA | + | + | + | NA |
| DCL 014 | NA | + | + | + | NA |
| LFM 634 | NA | + | + | + | NA |
| RMP 851-A | NA | + | + | ++ | NA |
| RMP 1256 | NA | + | + | + | NA |
| RMP 1305 | NA | - | ++ | - | NA |
| RMP 1315 | NA | + | + | + | NA |
| RMP 1316 | NA | + | + | + | NA |
| RMP 1321 | + | + | + | + | NA |
| RMP 1484 | NA | + | + | + | NA |
| RMP 1486 | NA | + | + | + | NA |
| SCU 099 | NA | ++ | ++ | ++ | ++ |
| SCU 101 | NA | ++ | ++ | ++ | ++ |
| SCU 164 | NA | ++ | ++ | ++ | ++ |
| SCU 304 | NA | + | NA | - | NA |
| TSM 033 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 036 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 045 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 049 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 050 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 055 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 056 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 060 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 080 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 089 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 094 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 095 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 097 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 098 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 101 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 102 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 103 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 130 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 131 | NA | + | + | - | NA |
| TSM 132 | NA | + | + | + | NA |
| TSM 133 | NA | ++ | + | + | NA |

Análise da produção de PHAs em diferentes isolados de lodo de esgoto e solo do Campus Universitário, em diferentes fontes de carbono, após 5 dias de incubação a 30ºC, seguido da coloração com Sudan Black B, que foi utilizado como indicador qualitativo do acúmulo de polímeros. NA = Não avaliado; - ausência de coloração, + baixa coloração, ++ média coloração e +++ alta coloração.
FONTE (RODRIGUES, 2013)

## 5.2 Produção de $PHA_{MCL}$ em frascos agitados

Os isolados que cresceram e foram capazes de produzir PHAs nos diferentes substratos utilizados em meio sólido, detectados pela coloração com Sudan Black B, foram avaliados quantitativamente como relação à produção de $PHA_{MCL}$ através de cultivos em frascos agitados.

### *5.2.1 A partir de Amido*

A linhagem referência LFM 046 não foi capaz de crescer, e consequentemente, não obteve acúmulo a partir de amido. Foi detectado crescimento e acúmulo de PHAs a partir de amido somente pelo isolado RMP 1321(Tabelas 3 e 4) em testes qualitativos em meio sólido. Cultivos em frascos agitados demonstraram pouco crescimento (menor que 0,5 g/L) e acúmulo de PHAs inexpressivo (menor que 0,5% da massa seca celular). Assim, não foi detectado isolado promissor para produção de $PHA_{MCL}$ a partir de amido.

É importante destacar que, embora amido não tenha sido uma fonte de carbono efetiva para produção de $PHA_{MCL}$, sua hidrólise gera glicose que pode então ser utilizada para produção deste polímero.

### *5.2.2 A partir de Glicose*

Além do isolado controle (LFM 046), foram avaliados um total de trinta e oito isolados para produção de $PHA_{MCL}$ a partir de glicose. A Tabela 5 – figura 8 apresenta os resultados obtidos de todos os isolados analisados quanto à produção de PHA a partir de glicose. Os resultados em triplicata encontram-se no Apêndice A.

Alguns dos isolados produziram $PHA_{MCL}$ em baixas concentrações (<0,3 g/L), mas para apenas um dos isolados (SCU304) a concentração de $PHA_{MCL}$ foi inferior a 0,1 g/L. Estes resultados indicam que o método de detecção da produção de $PHA_{MCL}$ utilizando a coloração de colônias com Sudan Black B é bastante sensível, permitindo detectar isolados que produzem pequenas quantidades deste polímero.

O isolado controle LFM 046 atingiu 4,69 g/L de biomassa seca contendo 48,3% de $PHA_{MCL}$. O PHA produzido continha 3HD como principal constituinte correspondendo a 56,8 mol%. Nenhum dos isolados avaliados atingiu desempenho superior ao observado pela linhagem de referência. Apenas um isolado apresentou teor de polímero abaixo de 5% (SCU

304), isso pode ser explicado pelo baixo valor de pH que o cultivo atingiu, ou seja, a redução do pH impediria um acúmulo mais expressivo de PHA. Oito isolados apresentaram teor de polímero entre 15 e 20%. Seis isolados apresentaram teor de polímero entre 20 e 25%; Dez isolados apresentaram teor de polímero entre 25 e 30% e somente o isolado TSM 33 ficou acima dos 31%, mas atingiu baixas concentrações de biomassa seca, cerca de 1,5 g/L. Estudo de SHARMA et al., 2012, utilizando *Pseudomonas* isoladas de lodo de esgoto, demonstraram produção de $PHA_{MCL}$ entre 8 e 22% da massa seca celular, utilizando 2% de glicose e após 72 horas de cultivo.

Os melhores resultados obtidos neste estudo, utilizando glicose como substrato, foram observados para os isolados LFM 634 e RMP 851-A, que atingiram concentração de biomassa seca superior a 2,6 g/L, contendo 24-29% de $PHA_{MCL,}$ correspondendo a mais que 0,5 g/L de PHA. Em todos os isolados testados, o 3HD foi o principal constituinte do PHA, indicando a presença de PHA sintase de classe II (Tabela 1). Merecem destaque ainda os isolados SCU99, SCU101 e SCU164 que embora tenham atingido elevadas concentrações de biomassa seca (acima de 3 g/L), o teor de polímero acumulado foi reduzido (menor que 15% da MSC).

Para o isolado LFM 634, o desempenho inferior à linhagem referência pode ser atribuído à produção simultânea de ramnolipídios, que também contém em sua composição 3HA (STRELEC, 2006; ALMEIDA, 2011).

Gomez (2000) desenvolveu uma equação matemática para calcular o desempenho de conversão da fonte de carbono em $PHA_{MCL}$ em relação ao valor máximo teórico ($Y_{MÁX}$). Nesta equação, são considerados o teor de PHA acumulado, bem como sua composição. A linhagem controle (LFM046) apresentou um desempenho na conversão de glicose em $PHA_{MCL}$ correspondendo a 66% do valor máximo teórico. Embora as concentrações de $PHA_{MCL}$ detectadas para os isolados tenham sido bastante inferiores aos valores obtidos com a linhagem controle, para alguns foram observados desempenhos bastante próximos dessa linhagem, ou seja, cerca de 60% da eficiência máxima teórica (DCL 11, RMP 851-A, SCU 101, SCU 164 e TSM 36). O isolado SCU099 atingiu um desempenho na conversão de glicose em $PHA_{MCL}$ correspondendo a 70,9% da eficiência máxima teórica.

**Tabela 5** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Glicose.

(continua)

| | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MSC | $X_R$ | pH | Glicose | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | | (g/L) | (g/L) | | Cons.(g/L) | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| LFM 046 | M | 4,69 | 2,42 | 6,37 | 16,07 | 0,90 | 3,03 | 33,17 | 56,80 | 2,58 | 3,52 | 48,30 | 2,26 | 66,00 |
| | DP | 0,17 | 0,10 | 0,02 | 0,25 | 0,03 | 0,06 | 0,75 | 0,53 | 0,18 | 0,12 | 1,68 | 0,13 | 2,27 |
| DCL 06 | M | 2,34 | 1,95 | 5,64 | 13,43 | 2,63 | 2,22 | 18,30 | 62,77 | 9,13 | 4,95 | 16,51 | 0,39 | 51,40 |
| | DP | 0,17 | 0,13 | 0,23 | 0,00 | 0,57 | 0,16 | 0,79 | 0,72 | 0,27 | 0,16 | 0,65 | 0,04 | 3,58 |
| DCL 07 | M | 1,18 | 1,06 | 6,03 | 15,75 | 1,03 | 3,53 | 12,11 | 64,55 | 12,98 | 6,07 | 10,65 | 0,13 | 23,54 |
| | DP | 0,15 | 0,13 | 0,05 | 2,01 | 0,92 | 1,12 | 2,04 | 5,14 | 3,92 | 1,75 | 0,26 | 0,02 | 3,85 |
| DCL 08 | M | 1,66 | 1,42 | 5,70 | 13,43 | 1,66 | 2,20 | 19,51 | 64,25 | 8,48 | 3,90 | 14,71 | 0,24 | 36,92 |
| | DP | 0,12 | 0,10 | 0,08 | 0,00 | 0,23 | 0,21 | 1,46 | 1,27 | 0,43 | 0,21 | 0,42 | 0,02 | 2,65 |
| DCL 11 | M | 2,58 | 2,19 | 6,19 | 13,55 | 1,61 | 3,04 | 16,00 | 61,88 | 10,96 | 6,51 | 15,07 | 0,39 | 57,61 |
| | DP | 0,40 | 0,36 | 0,08 | 0,78 | 0,06 | 0,87 | 1,30 | 1,76 | 1,34 | 1,56 | 0,65 | 0,04 | 12,90 |
| DCL 14 | M | 1,68 | 1,41 | 6,15 | 11,97 | 2,22 | 2,27 | 10,82 | 63,95 | 13,24 | 7,51 | 15,94 | 0,27 | 42,11 |
| | DP | 0,43 | 0,36 | 0,04 | 2,22 | 1,20 | 0,78 | 4,03 | 1,80 | 2,06 | 2,48 | 1,13 | 0,08 | 8,39 |
| LFM 634 | M | 2,59 | 1,95 | 5,97 | 14,78 | 1,45 | 1,84 | 19,39 | 64,65 | 7,51 | 5,17 | 24,54 | 0,64 | 48,88 |
| | DP | 0,32 | 0,23 | 0,06 | 0,06 | 0,12 | 0,15 | 0,26 | 0,19 | 0,29 | 0,08 | 0,48 | 0,08 | 6,00 |
| RMP 851-A | M | 3,39 | 2,41 | 6,40 | 14,45 | 1,13 | 2,47 | 16,92 | 64,56 | 7,43 | 7,48 | 28,71 | 0,97 | 63,71 |
| | DP | 0,11 | 0,08 | 0,01 | 0,13 | 0,14 | 0,02 | 0,22 | 0,05 | 0,30 | 0,04 | 0,45 | 0,03 | 1,64 |
| RMP 1256 | M | 0,98 | 0,73 | 6,40 | 16,22 | 1,40 | 1,02 | 12,96 | 71,75 | 7,28 | 5,59 | 26,05 | 0,26 | 16,89 |
| | DP | 0,09 | 0,08 | 0,04 | 0,00 | 0,21 | 0,04 | 0,34 | 0,68 | 0,14 | 0,25 | 2,89 | 0,02 | 1,72 |
| RMP 1315 | M | 1,86 | 1,36 | 5,42 | 13,35 | 1,13 | 1,82 | 15,62 | 69,16 | 7,04 | 5,22 | 26,42 | 0,49 | 38,55 |
| | DP | 0,18 | 0,10 | 0,06 | 1,13 | 0,15 | 0,13 | 0,37 | 0,24 | 0,45 | 0,18 | 1,69 | 0,08 | 4,27 |
| RMP 1316 | M | 1,18 | 0,96 | 6,35 | 16,68 | 0,47 | 1,38 | 11,05 | 68,68 | 11,59 | 6,83 | 18,47 | 0,21 | 20,89 |
| | DP | 0,31 | 0,27 | 0,06 | 0,40 | 0,82 | 0,03 | 2,49 | 0,42 | 3,04 | 0,07 | 1,62 | 0,04 | 5,54 |
| RMP 1321 | M | 0,55 | 0,40 | 6,38 | 16,22 | 1,34 | 1,52 | 13,11 | 70,25 | 7,95 | 5,84 | 26,88 | 0,15 | 9,42 |
| | DP | 0,08 | 0,04 | 0,02 | 0,00 | 0,29 | 0,40 | 0,52 | 2,96 | 1,42 | 0,67 | 3,68 | 0,04 | 1,12 |
| RMP 1484 | M | 1,18 | 0,87 | 6,37 | 16,22 | 0,61 | 1,20 | 11,39 | 73,15 | 7,90 | 5,75 | 26,59 | 0,31 | 20,25 |
| | DP | 0,18 | 0,17 | 0,03 | 0,00 | 0,46 | 0,12 | 0,10 | 0,58 | 0,48 | 0,17 | 3,31 | 0,01 | 3,57 |
| RMP 1486 | M | 2,36 | 2,03 | 6,09 | 16,22 | 1,65 | 1,83 | 15,48 | 68,43 | 8,84 | 3,77 | 14,21 | 0,34 | 43,82 |
| | DP | 0,17 | 0,14 | 0,15 | 0,00 | 0,23 | 0,27 | 1,11 | 1,30 | 0,42 | 0,22 | 0,66 | 0,04 | 3,09 |
| SCU 99 | M | 3,72 | 3,29 | 5,65 | 16,22 | 3,75 | 2,07 | 12,25 | 54,29 | 14,29 | 13,35 | 11,42 | 0,42 | 70,91 |
| | DP | 0,23 | 0,19 | 0,13 | 0,00 | 0,12 | 0,46 | 0,14 | 0,19 | 0,37 | 0,28 | 0,59 | 0,04 | 4,33 |
| SCU 101 | M | 3,34 | 2,96 | 4,91 | 16,22 | 1,48 | 3,28 | 23,71 | 50,93 | 10,64 | 9,96 | 11,44 | 0,38 | 63,06 |
| | DP | 0,10 | 0,10 | 0,03 | 0,00 | 0,23 | 0,15 | 1,71 | 0,40 | 0,93 | 0,26 | 0,40 | 0,00 | 2,13 |
| SCU 164 | M | 3,10 | 2,67 | 4,93 | 16,22 | 3,05 | 2,22 | 16,07 | 55,10 | 12,29 | 11,26 | 14,00 | 0,44 | 57,90 |
| | DP | 0,28 | 0,22 | 0,05 | 0,00 | 0,29 | 0,51 | 1,38 | 1,27 | 0,23 | 0,41 | 1,19 | 0,07 | 4,82 |
| SCU 304 | M | 1,76 | 1,71 | 3,35 | 9,70 | 5,09 | 0,00 | 5,41 | 50,84 | 24,72 | 13,94 | 2,61 | 0,05 | 60,13 |
| | DP | 0,24 | 0,23 | 0,01 | 0,18 | 0,32 | 0,00 | 0,14 | 0,63 | 0,93 | 0,57 | 0,20 | 0,01 | 9,06 |
| TSM 33 | M | 1,50 | 1,02 | 5,82 | 16,22 | 0,93 | 4,45 | 14,43 | 64,46 | 8,37 | 7,36 | 31,45 | 0,48 | 24,54 |
| | DP | 0,14 | 0,03 | 0,22 | 0,00 | 0,81 | 5,42 | 1,61 | 6,00 | 2,00 | 0,95 | 8,47 | 0,16 | 1,01 |
| TSM 36 | M | 2,36 | 2,12 | 5,05 | 12,33 | 2,27 | 0,91 | 9,25 | 74,59 | 8,50 | 4,48 | 10,15 | 0,24 | 59,44 |
| | DP | 0,09 | 0,10 | 0,05 | 0,16 | 0,12 | 0,42 | 0,72 | 1,10 | 0,29 | 0,20 | 0,76 | 0,01 | 2,60 |
| TSM 45 | M | 1,08 | 0,78 | 6,24 | 16,68 | 0,94 | 2,07 | 15,16 | 66,31 | 7,51 | 8,02 | 27,71 | 0,30 | 17,84 |
| | DP | 0,09 | 0,09 | 0,11 | 0,40 | 0,44 | 0,66 | 1,37 | 2,28 | 3,83 | 0,88 | 5,13 | 0,06 | 2,07 |
| TSM 49 | M | 1,70 | 1,47 | 6,18 | 16,22 | 2,18 | 2,15 | 15,96 | 60,31 | 11,52 | 7,87 | 13,90 | 0,24 | 31,79 |
| | DP | 0,20 | 0,20 | 0,02 | 0,00 | 0,25 | 0,18 | 0,35 | 3,93 | 0,30 | 4,04 | 1,83 | 0,03 | 3,98 |

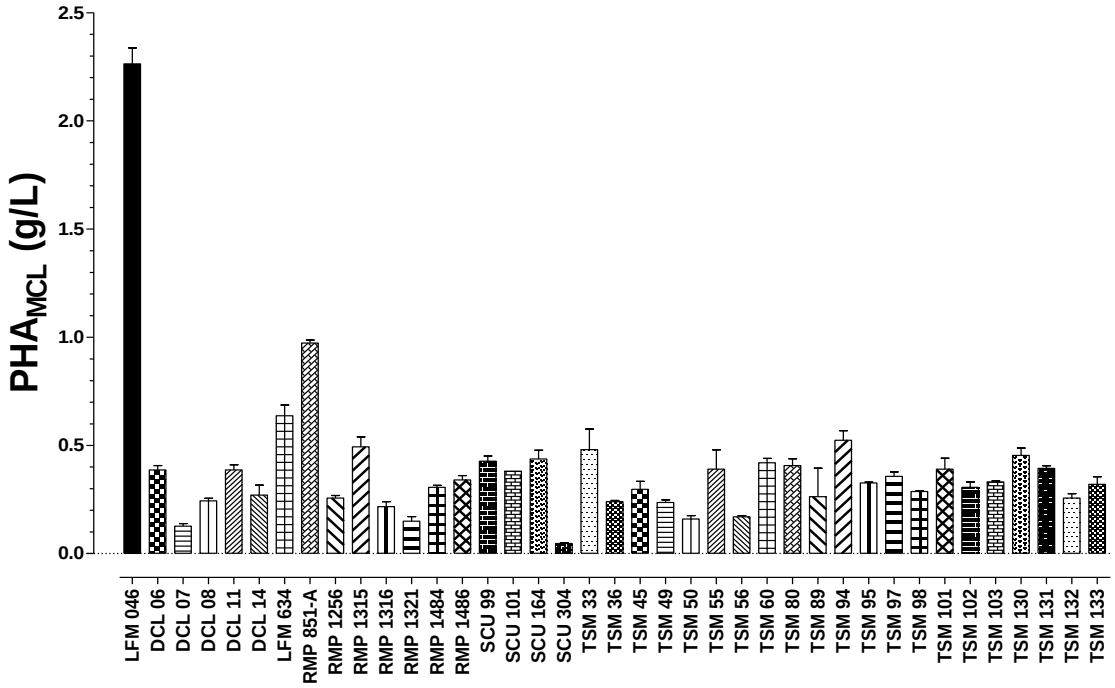
**Tabela 5** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Glicose.

(conclusão)

| Isolados | | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Glicose Consum. | Polihidroxialcanoatos Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TSM 50 | M | 1,24 | 1,08 | 6,4 | 16,22 | 1,79 | 2,16 | 11,74 | 67,49 | 10,61 | 6,21 | 12,98 | 0,16 | 23,38 |
| | DP | 0,2 | 0,18 | 0,03 | 0,00 | 0,25 | 0,54 | 1,35 | 2,31 | 0,14 | 0,41 | 1,26 | 0,03 | 3,77 |
| TSM 55 | M | 1,90 | 1,51 | 6,09 | 16,22 | 2,18 | 2,14 | 16,60 | 63,53 | 9,50 | 6,05 | 20,48 | 0,39 | 33,69 |
| | DP | 0,12 | 0,17 | 0,04 | 0,00 | 0,24 | 0,54 | 2,35 | 1,97 | 0,33 | 1,42 | 8,00 | 0,15 | 2,57 |
| TSM 56 | M | 1,10 | 0,92 | 6,12 | 16,22 | 1,87 | 1,92 | 13,11 | 68,10 | 9,86 | 5,14 | 16,05 | 0,17 | 20,20 |
| | DP | 0,15 | 0,15 | 0,02 | 0,00 | 0,16 | 0,19 | 1,42 | 1,75 | 0,13 | 0,06 | 1,52 | 0,01 | 3,00 |
| TSM 60 | M | 2,88 | 2,46 | 6,29 | 16,22 | 2,08 | 2,36 | 15,69 | 64,10 | 10,56 | 5,22 | 14,66 | 0,42 | 53,35 |
| | DP | 0,12 | 0,15 | 0,02 | 0,00 | 0,25 | 0,13 | 1,45 | 1,93 | 0,32 | 0,17 | 1,70 | 0,04 | 2,86 |
| TSM 80 | M | 1,62 | 1,22 | 6,17 | 16,22 | 1,50 | 1,94 | 14,69 | 64,94 | 7,34 | 4,51 | 25,06 | 0,41 | 27,48 |
| | DP | 0,21 | 0,16 | 0,04 | 0,00 | 0,31 | 0,09 | 1,62 | 4,65 | 0,24 | 0,15 | 1,23 | 0,06 | 3,64 |
| TSM 89 | M | 2,51 | 2,09 | 5,13 | 15,18 | 2,39 | 1,87 | 15,27 | 63,96 | 11,02 | 5,90 | 16,03 | 0,40 | 48,96 |
| | DP | 0,07 | 0,07 | 0,06 | 0,52 | 2,07 | 0,09 | 0,57 | 0,95 | 0,47 | 1,42 | 0,51 | 0,01 | 2,52 |
| TSM 94 | M | 2,88 | 2,36 | 6,24 | 15,36 | 0,36 | 2,05 | 13,17 | 68,86 | 9,79 | 5,80 | 18,06 | 0,52 | 55,29 |
| | DP | 0,26 | 0,19 | 0,02 | 0,74 | 0,48 | 0,76 | 2,18 | 4,39 | 0,75 | 0,48 | 1,20 | 0,08 | 3,39 |
| TSM 95 | M | 1,55 | 1,22 | 6,24 | 16,22 | 0,14 | 1,40 | 12,55 | 73,33 | 8,30 | 4,28 | 21,29 | 0,33 | 27,54 |
| | DP | 0,10 | 0,10 | 0,03 | 0,00 | 0,01 | 0,14 | 0,77 | 1,41 | 0,43 | 0,30 | 1,35 | 0,00 | 2,09 |
| TSM 97 | M | 2,42 | 2,07 | 6,18 | 16,22 | 1,75 | 1,83 | 15,19 | 68,45 | 8,87 | 3,90 | 14,75 | 0,36 | 44,77 |
| | DP | 0,15 | 0,12 | 0,18 | 0,00 | 0,36 | 0,37 | 0,46 | 0,59 | 7,58 | 0,08 | 0,71 | 0,04 | 2,61 |
| TSM 98 | M | 1,14 | 0,85 | 6,19 | 16,22 | 0,90 | 1,10 | 11,43 | 74,59 | 7,54 | 4,45 | 25,31 | 0,29 | 19,71 |
| | DP | 0,08 | 0,08 | 0,04 | 0,00 | 0,70 | 0,18 | 0,41 | 0,37 | 0,04 | 0,45 | 1,44 | 0,01 | 1,62 |
| TSM 101 | M | 1,44 | 1,04 | 6,11 | 16,22 | 0,83 | 1,34 | 13,41 | 72,76 | 6,76 | 4,89 | 27,00 | 0,39 | 24,42 |
| | DP | 0,14 | 0,07 | 0,17 | 0,00 | 0,04 | 0,06 | 0,48 | 0,14 | 0,16 | 0,12 | 3,90 | 0,09 | 1,95 |
| TSM 102 | M | 2,09 | 1,78 | 5,77 | 16,22 | 3,12 | 2,26 | 16,86 | 64,51 | 9,23 | 4,03 | 14,57 | 0,31 | 38,44 |
| | DP | 0,12 | 0,08 | 0,51 | 0,00 | 0,69 | 0,50 | 2,77 | 4,00 | 0,45 | 0,15 | 1,03 | 0,04 | 1,77 |
| TSM 103 | M | 1,57 | 1,24 | 6,16 | 16,22 | 1,49 | 1,54 | 14,30 | 71,72 | 7,10 | 3,92 | 21,24 | 0,33 | 27,82 |
| | DP | 0,14 | 0,13 | 0,02 | 0,00 | 0,24 | 0,21 | 0,49 | 1,25 | 0,55 | 0,24 | 1,65 | 0,01 | 2,72 |
| TSM 130 | M | 2,22 | 1,77 | 5,90 | 16,22 | 1,39 | 1,92 | 15,48 | 67,33 | 8,52 | 5,36 | 20,46 | 0,46 | 39,54 |
| | DP | 0,15 | 0,09 | 0,32 | 0,00 | 0,26 | 0,52 | 0,50 | 1,46 | 0,37 | 0,28 | 1,37 | 0,06 | 2,26 |
| TSM 131 | M | 1,75 | 1,35 | 6,20 | 16,22 | 1,19 | 1,55 | 13,44 | 71,53 | 7,70 | 4,59 | 22,55 | 0,39 | 30,70 |
| | DP | 0,11 | 0,11 | 0,03 | 0,00 | 0,25 | 0,34 | 1,30 | 1,30 | 0,25 | 0,40 | 1,92 | 0,02 | 2,21 |
| TSM 132 | M | 1,49 | 1,23 | 6,32 | 16,22 | 2,02 | 1,96 | 16,13 | 64,43 | 9,40 | 6,06 | 17,05 | 0,25 | 27,07 |
| | DP | 0,03 | 0,05 | 0,02 | 0,00 | 0,13 | 0,30 | 0,42 | 1,46 | 0,84 | 0,09 | 2,30 | 0,03 | 0,73 |
| TSM 133 | M | 1,16 | 0,84 | 6,26 | 14,48 | 3,54 | 2,24 | 17,21 | 58,39 | 11,64 | 6,98 | 28,54 | 0,32 | 23,89 |
| | DP | 0,39 | 0,33 | 0,00 | 3,00 | 3,89 | 0,15 | 5,76 | 6,22 | 3,41 | 1,64 | 3,87 | 0,06 | 14,72 |

MSC – Massa seca celular. 3HB - 3-hidroxibutirato. 3HHx – 3-hidroxihexanoato. 3HO – 3-hidroxioctanoato. 3HD – 3-hidroxidecanoato. 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 – 3-hidroxi-5-dodecenoato. Xr – Concentração residual. XPHA – Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos. pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72H. %MSC – Percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. M – Média. DP – Desvio Padrão.
FONTE: (RODRIGUES, 2013)

**Figura 9 –** Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando glicose.




Produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolado de referência LFM 046 (*Pseudomonas aeruginosa*) e por diversos isolados de lodo de esgoto e solo do Campus Universitário. Todos os cultivos foram realizados em meio mineral por período de 72 horas, Glicose foi utilizada como única fonte de carbono. Os dados estão representados como média ± desvio padrão, $n = 3$.
FONTE: (RODRIGUES, 2013)

### *5.2.3 A partir de Frutose*

A frutose representa juntamente com a glicose, o monossacarídeo liberado a partir da hidrólise da sacarose. Assim, sua utilização em conjunto com a glicose representaria uma alternativa para o uso de açúcar derivado da cana.

Além da linhagem referência, vinte e oito isolados foram testados para produção de $PHA_{MCL}$ a partir de frutose. *Pseudomonas* sp. LFM 046 atingiu 4,00 g/L de massa seca celular, contendo 41,5% de $PHA_{MCL}$, novamente tendo o 3HD como principal constituinte (Tabela 6). Os resultados em triplicata encontram-se no Apêndice A.

Oito isolados apresentaram teor de polímero entre 5 e 10%. Dez isolados apresentaram teor de polímero entre 10 e 15%. Quatro isolados de 15 e 20%. Outros quatro isolados apresentaram teor de polímero entre 20 e 25%. O desempenho de dois isolados (RMP 851-A e SCU 164) aproximou-se bastante da linhagem de referência quando frutose foi utilizada como fonte de carbono, ficando o teor de polímero acima de 30% da massa seca celular. Os isolados RMP851A, SCU101 e SCU164 atingiram concentrações de PHA superiores a 1 g/L, com

massa seca celular de 4,5-5,0 g/L, mas com teor de PHA no isolado SCU 101 de 24% (Tabela 6 - Figura 9).

Gomez (2000) avaliou a produção de $PHA_{MCL}$ por bactérias isoladas de solo de canavial, utilizando frutose e glicose como fontes de carbono. Embora os dois carboidratos tenham sido consumidos por todos os isolados bacterianos, glicose foi consumida preferencialmente a frutose. Similarmente os resultados obtidos neste estudo também demonstram maior número de isolados capazes utilizarem glicose (38 isolados) para acúmulo de $PHA_{MCL}$ em relação ao observado com frutose (28 isolados), contudo a quantidade de PHAs produzido a partir de glicose foi relativamente baixa (maioria dos isolados 0,5 g/L ou abaixo). Interessantemente a produção de $PHA_{MCL}$ a partir de frutose revelou quatro isolados (RMP851-A, SCU99, SCU101 e SCU164) com taxa de acúmulo variando entre 0,8 – 1,5 g/L, enquanto a produção pelo isolado controle foi de 1,7 g/L (Tabela 6 – Figura 9). Estes dados destacam a utilização de frutose como uma fonte de carbono importante para a produção de $PHA_{MCL}$ em isolados no presente estudo.

A comparação do desempenho dos isolados a eficiência máxima teórica esperada ($Y_{MÁX}$) nos cultivos utilizando frutose como única fonte de carbono mostrou que a linhagem controle (LFM046) apresentou um desempenho na conversão de glicose em $PHA_{MCL}$ correspondendo a 82% do valor máximo teórico. Embora as concentrações de $PHA_{MCL}$ detectadas para os isolados tenham sido bastante inferiores aos valores obtidos com a linhagem controle, para alguns isolados (SCU 101, RMP 1486, TSM 45 e TSM 55) foram observados desempenhos próximos dessa linhagem, ou seja, cerca de 80% da eficiência máxima teórica ou mesmo valores superiores a este. Para outros, o desempenho ficou próximo de 70% do valor máximo teórico (DCL14, RMP 851-A, RMP 1321, SCU 164, TSM 49, TSM 50, TSM 89, TSM 132 e TSM 133).

Comparando o desempenho na conversão de glicose ou frutose em $PHA_{MCL}$, três isolados (RMP 851-A, SCU 99 e SCU 101) despertam interesse, pois apresentaram eficiências superiores a 70% do valor máximo teórico e algumas vezes superior à linhagem controle.

**Tabela 6** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Frutose.

(continua)

| | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MSC | $X_R$ | pH | Frutose | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | | (g/L) | (g/L) | | Cons. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| LFM 046 | M | 4,09 | 2,39 | 6,39 | 11,18 | 0,49 | 3,09 | 31,01 | 59,62 | 2,38 | 3,41 | 41,50 | 1,70 | 82,65 |
| | DP | 0,05 | 0,21 | 0,03 | 0,56 | 0,07 | 0,06 | 0,14 | 0,10 | 0,10 | 0,02 | 4,68 | 0,18 | 5,03 |
| DCL 06 | M | 2,86 | 2,28 | 6,29 | 15,10 | 1,05 | 2,44 | 17,71 | 67,54 | 7,14 | 4,13 | 20,36 | 0,58 | 40,28 |
| | DP | 0,22 | 0,22 | 0,03 | 0,16 | 0,08 | 0,08 | 0,27 | 1,13 | 0,46 | 0,32 | 1,85 | 0,03 | 2,74 |
| DCL 07 | M | 2,09 | 1,78 | 6,34 | 10,13 | 0,07 | 2,71 | 16,59 | 64,55 | 10,85 | 5,23 | 14,86 | 0,31 | 43,72 |
| | DP | 0,25 | 0,20 | 0,03 | 1,45 | 0,06 | 0,49 | 1,17 | 3,76 | 4,51 | 0,06 | 0,69 | 0,04 | 7,04 |
| DCL 08 | M | 2,54 | 1,94 | 6,28 | 14,45 | 0,35 | 2,30 | 17,45 | 69,11 | 6,89 | 3,91 | 23,50 | 0,60 | 48,93 |
| | DP | 0,22 | 0,13 | 0,02 | 0,20 | 0,51 | 0,16 | 0,24 | 0,99 | 0,13 | 0,06 | 1,59 | 0,09 | 3,25 |
| DCL 11 | M | 2,61 | 2,03 | 6,28 | 12,90 | 0,61 | 2,04 | 18,10 | 68,70 | 6,71 | 3,85 | 22,46 | 0,59 | 56,75 |
| | DP | 0,07 | 0,06 | 0,01 | 0,26 | 0,52 | 0,11 | 0,34 | 0,40 | 0,04 | 0,05 | 0,80 | 0,03 | 2,23 |
| DCL 14 | M | 2,55 | 2,08 | 6,31 | 10,21 | 1,43 | 1,89 | 15,31 | 68,42 | 7,83 | 5,12 | 18,39 | 0,47 | 72,35 |
| | DP | 0,07 | 0,09 | 0,01 | 0,27 | 1,63 | 0,04 | 0,25 | 1,17 | 0,21 | 0,15 | 1,74 | 0,04 | 3,49 |
| LFM 634 | M | 2,16 | 1,85 | 6,33 | 9,87 | 0,00 | 2,74 | 20,40 | 63,59 | 8,06 | 5,21 | 14,59 | 0,32 | 64,92 |
| | DP | 0,04 | 0,06 | 0,01 | 0,45 | 0,00 | 0,30 | 0,38 | 0,43 | 0,13 | 0,05 | 2,08 | 0,04 | 1,42 |
| RMP 851-A | M | 5,02 | 3,48 | 6,37 | 17,78 | 1,17 | 2,64 | 18,38 | 63,77 | 6,39 | 7,65 | 30,74 | 1,54 | 74,58 |
| | DP | 0,07 | 0,19 | 0,07 | 0,27 | 0,01 | 0,04 | 0,15 | 0,09 | 0,09 | 0,11 | 3,41 | 0,17 | 3,42 |
| RMP 1256 | M | 2,00 | 1,80 | 6,36 | 9,35 | 0,01 | 1,52 | 16,28 | 66,47 | 10,64 | 5,09 | 9,97 | 0,20 | 66,19 |
| | DP | 0,24 | 0,21 | 0,01 | 0,88 | 0,01 | 1,12 | 0,15 | 0,38 | 0,56 | 0,21 | 0,45 | 0,03 | 9,63 |
| RMP 1315 | M | 1,57 | 1,36 | 6,39 | 9,82 | 0,11 | 2,09 | 17,48 | 67,18 | 8,46 | 4,68 | 13,34 | 0,21 | 48,10 |
| | DP | 0,15 | 0,15 | 0,03 | 0,24 | 0,03 | 0,15 | 1,21 | 0,20 | 1,22 | 0,35 | 1,42 | 0,01 | 6,19 |
| RMP 1316 | M | 1,81 | 1,65 | 6,42 | 9,41 | 0,00 | 4,16 | 14,96 | 65,42 | 9,25 | 6,21 | 8,59 | 0,15 | 60,75 |
| | DP | 0,28 | 0,26 | 0,08 | 2,13 | 0,00 | 1,75 | 1,10 | 4,04 | 3,80 | 1,15 | 0,45 | 0,02 | 13,44 |
| RMP 1321 | M | 2,05 | 1,87 | 6,30 | 8,14 | 0,00 | 1,35 | 15,51 | 65,54 | 12,03 | 5,56 | 8,93 | 0,18 | 78,69 |
| | DP | 0,07 | 0,05 | 0,01 | 0,70 | 0,00 | 0,99 | 0,42 | 1,64 | 2,03 | 0,93 | 0,61 | 0,02 | 8,02 |
| RMP 1484 | M | 2,12 | 1,80 | 6,32 | 9,60 | 0,03 | 0,37 | 9,11 | 76,61 | 9,17 | 4,70 | 14,99 | 0,32 | 65,92 |
| | DP | 0,42 | 0,34 | 0,02 | 0,22 | 0,06 | 0,44 | 1,91 | 2,00 | 0,28 | 0,10 | 1,66 | 0,08 | 12,13 |
| RMP 1486 | M | 2,58 | 2,24 | 6,33 | 9,04 | 0,00 | 1,31 | 9,82 | 73,99 | 9,97 | 4,91 | 13,09 | 0,34 | 86,24 |
| | DP | 0,37 | 0,34 | 0,03 | 0,20 | 0,00 | 0,27 | 0,36 | 0,62 | 0,26 | 0,15 | 0,86 | 0,03 | 11,18 |
| SCU 99 | M | 4,69 | 3,82 | 6,17 | 17,90 | 3,23 | 1,30 | 5,23 | 58,97 | 15,00 | 15,23 | 18,52 | 0,87 | 76,82 |
| | DP | 0,35 | 0,33 | 0,12 | 0,23 | 0,13 | 0,16 | 4,61 | 2,09 | 0,97 | 0,45 | 1,93 | 0,08 | 5,41 |
| SCU 101 | M | 4,55 | 3,43 | 6,41 | 14,52 | 1,56 | 0,98 | 8,24 | 63,03 | 12,85 | 13,35 | 24,48 | 1,13 | 88,19 |
| | DP | 0,67 | 0,39 | 0,01 | 0,76 | 0,16 | 0,06 | 0,46 | 0,51 | 0,33 | 0,36 | 2,76 | 0,29 | 6,96 |
| SCU 164 | M | 4,54 | 3,17 | 6,36 | 15,86 | 2,40 | 1,08 | 8,40 | 63,32 | 11,29 | 13,51 | 30,43 | 1,37 | 77,08 |
| | DP | 0,65 | 0,57 | 0,15 | 0,56 | 0,09 | 0,12 | 0,03 | 0,23 | 0,10 | 0,11 | 3,09 | 0,12 | 9,88 |
| TSM 33 | M | 2,00 | 1,82 | 6,37 | 10,04 | 1,07 | 2,50 | 16,97 | 63,10 | 11,25 | 5,10 | 8,91 | 0,18 | 61,51 |
| | DP | 0,06 | 0,06 | 0,01 | 0,25 | 0,93 | 0,05 | 0,29 | 0,42 | 0,23 | 0,05 | 0,35 | 0,00 | 2,34 |
| TSM 36 | M | 2,25 | 1,98 | 6,27 | 10,39 | 1,13 | 1,31 | 14,59 | 66,58 | 10,79 | 4,55 | 11,91 | 0,27 | 65,75 |
| | DP | 0,28 | 0,24 | 0,01 | 0,41 | 0,98 | 1,13 | 1,61 | 2,26 | 2,95 | 0,26 | 0,36 | 0,04 | 10,92 |
| TSM 45 | M | 2,24 | 1,98 | 6,31 | 7,89 | 0,00 | 1,40 | 16,00 | 67,33 | 9,71 | 5,56 | 11,40 | 0,25 | 86,78 |
| | DP | 0,07 | 0,07 | 0,03 | 0,50 | 0,00 | 1,02 | 0,11 | 0,90 | 0,07 | 0,02 | 0,35 | 0,00 | 8,05 |
| TSM 49 | M | 2,02 | 1,85 | 6,34 | 8,09 | 0,00 | 2,05 | 15,64 | 64,67 | 11,75 | 5,91 | 8,09 | 0,16 | 78,01 |
| | DP | 0,15 | 0,13 | 0,01 | 0,32 | 0,00 | 0,05 | 0,30 | 0,37 | 0,59 | 0,06 | 0,45 | 0,02 | 8,35 |
| TSM 50 | M | 2,04 | 1,80 | 6,25 | 8,55 | 0,00 | 2,48 | 17,17 | 65,69 | 9,46 | 5,19 | 12,01 | 0,25 | 72,35 |
| | DP | 0,10 | 0,09 | 0,01 | 0,45 | 0,00 | 0,04 | 0,22 | 0,24 | 0,15 | 0,10 | 0,20 | 0,01 | 1,25 |
| TSM 55 | M | 1,86 | 1,74 | 6,38 | 7,20 | 0,18 | 0,23 | 15,59 | 62,66 | 14,98 | 6,36 | 6,60 | 0,12 | 81,86 |
| | DP | 0,04 | 0,04 | 0,01 | 0,15 | 0,01 | 0,02 | 0,56 | 1,33 | 2,07 | 0,31 | 0,23 | 0,01 | 3,46 |

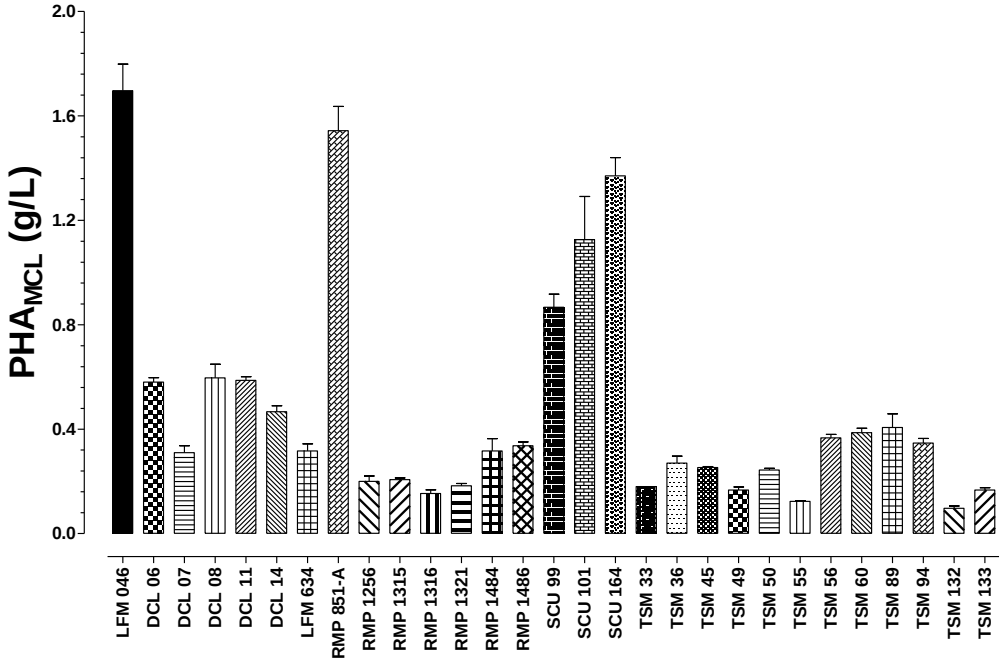
**Tabela 6** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Frutose.

(conclusão)

| Isolados | | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Frutose Cons. | Polihidroxialcanoatos Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TSM 56 | M | 2,17 | 1,81 | 6,34 | 10,48 | 0,65 | 1,97 | 16,78 | 66,06 | 7,45 | 4,47 | 16,76 | 0,36 | 59,95 |
| | DP | 0,10 | 0,08 | 0,01 | 0,18 | 0,56 | 0,06 | 0,31 | 0,86 | 0,13 | 0,04 | 0,61 | 0,02 | 3,04 |
| TSM 60 | M | 2,35 | 1,97 | 6,34 | 10,88 | 0,39 | 2,35 | 17,63 | 66,35 | 8,40 | 4,88 | 16,33 | 0,38 | 63,54 |
| | DP | 0,21 | 0,18 | 0,03 | 0,79 | 0,59 | 0,62 | 0,67 | 2,72 | 0,94 | 0,81 | 0,32 | 0,03 | 5,47 |
| TSM 89 | M | 3,48 | 3,08 | 6,38 | 14,36 | 0,75 | 2,69 | 15,33 | 65,71 | 8,62 | 6,90 | 11,58 | 0,41 | 73,58 |
| | DP | 0,35 | 0,27 | 0,02 | 0,29 | 1,03 | 1,15 | 3,01 | 3,21 | 0,35 | 4,35 | 1,44 | 0,09 | 6,87 |
| TSM 94 | M | 2,46 | 2,12 | 6,37 | 10,88 | 1,70 | 1,93 | 16,03 | 67,74 | 8,20 | 4,40 | 14,17 | 0,35 | 68,33 |
| | DP | 0,09 | 0,09 | 0,02 | 1,43 | 0,28 | 0,28 | 2,77 | 1,79 | 0,57 | 0,41 | 1,13 | 0,03 | 11,39 |
| TSM 132 | M | 1,88 | 1,78 | 6,37 | 7,65 | 0,08 | 2,20 | 14,54 | 60,23 | 16,27 | 6,68 | 5,27 | 0,10 | 78,63 |
| | DP | 0,05 | 0,06 | 0,01 | 0,60 | 0,14 | 1,62 | 0,72 | 0,50 | 2,27 | 0,40 | 0,90 | 0,01 | 8,05 |
| TSM 133 | M | 2,00 | 1,83 | 6,37 | 8,67 | 0,07 | 0,83 | 15,74 | 66,09 | 11,59 | 5,68 | 8,42 | 0,17 | 71,88 |
| | DP | 0,06 | 0,05 | 0,01 | 0,19 | 0,13 | 1,02 | 0,46 | 0,61 | 0,75 | 0,14 | 0,85 | 0,02 | 0,82 |

MSC – Massa seca celular. 3HB - 3-hidroxibutirato. 3HHx – 3-hidroxihexanoato. 3HO – 3-hidroxioctanoato. 3HD – 3-hidroxidecanoato. 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 – 3-hidroxi-5-dodecenoato. Xr – Concentração residual. XPHA – Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos. pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72H. %MSC – Percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. M – Média. DP – Desvio Padrão.

**Figura 10** – Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando Frutose.




Produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolado de referência LFM 046 (*Pseudomonas aeruginosa*) e por diversos isolados de lodo de esgoto e solo do Campus Universitário. Todos os cultivos foram realizados em meio mineral por período de 72 horas, Frutose foi utilizada como única fonte de carbono. Os dados estão representados como média ± desvio padrão, $n = 3$.

FONTE: Rodrigues (2013)

*5.2.4 A partir de Glicerol*

Além do isolado controle, trinta e oito isolados foram avaliados quanto à produção de $PHA_{MCL}$ a partir de glicerol. A linhagem (LFM046) não foi capaz de utilizar glicerol como fonte de carbono eficientemente. Assim, a massa seca celular foi inferior a 1 g/L e o teor de PHA acumulado inferior a 1% (Tabela 7 – Figura 10). Todos os resultados obtidos em triplicata encontram-se no Apêndice A.

Cinco isolados apresentaram teor de polímero entre 8 e 10%. Quatro isolados apresentaram teor de polímero entre 10 e 15%. Onze isolados apresentaram entre 15 e 20%. Doze isolados apresentaram produção entre 20 e 25%. Três isolados atingiram a produção de polímero entre 25 e 30% da massa seca celular. Dois isolados (TSM 98 e TSM 131) apresentaram teor de polímero acima dos 30%. Os isolados TSM80 e TSM131 apresentaram desempenho de destaque, pois atingiram concentrações de PHA superiores a 1 g/L, correspondendo a massa seca celular de cerca de 4,0-4,5 g/L e teor de PHA de aproximadamente 30%. Os PHAs produzidos por esses isolados apresentaram uma fração molar de 3HD superior a 70% (Tabela 7). Estudos conduzidos por Sharma et al. (2012) demonstraram produção de $PHA_{MCL}$ por linhagens de *Pseudomonas* sp., isoladas do lodo de esgoto e celeiro de suínos, a quantidade de polímero observada foi em torno de 8,6%. Estes resultados confirmam a capacidade de espécies do gênero *Pseudomonas* produzirem $PHA_{MCL}$ a partir de glicerol e destacam os resultados obtidos neste estudo, em que alguns isolados acumularam aproximadamente 30% do teor do polímero (Tabela 7).

Os resultados obtidos a partir de glicerol por estes isolados demonstram que esta fonte de carbono é muito interessante para a produção de $PHA_{MCL,}$ uma vez que, a linhagem controle não é capaz de utilizar eficientemente este substrato.

Os resultados obtidos após os cálculos para obtenção da eficiência máxima teórica ($Y_{MÁX}$) mostraram que a linhagem controle (LFM046) apresentou um baixo desempenho na conversão de glicerol em $PHA_{MCL,}$ correspondendo a 34% do valor máximo teórico. Apenas um isolado apresentou desempenho inferior a 16% do máximo teórico; dois isolados apresentaram entre 20 e 30% e a maioria dos isolados restantes apresentaram valores entre 35 e 50% do $Y_{MÁX}$. Para os isolados SCU 99 e TSM 98, o desempenho atingido na conversão de glicerol em $PHA_{MCL}$ foi acima dos 60% da eficiência máxima teórica.

Assim, considerando glicose, frutose e glicerol como possíveis fontes de carbono, o isolado SCU 99 merece destaque, pois apresentou eficiências muito boas na conversão de qualquer uma dessas fontes de carbono em $PHA_{MCL}$.

**Tabela 7** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Glicerol.

(continua)

| | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | | (g/L) | (g/L) | | Cons. (g/L) | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| **LFM 046** | M | 0,62 | 0,62 | 7,01 | 4,16 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 49,60 | 50,40 | 0,00 | 0,74 | 0,00 | 34,14 |
| | DP | 0,27 | 0,27 | 0,02 | 1,12 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,06 | 2,06 | 0,00 | 0,14 | 0,00 | 23,28 |
| **DCL 06** | M | 2,41 | 1,85 | 6,36 | 16,03 | 1,07 | 2,24 | 22,05 | 67,29 | 4,65 | 2,70 | 23,09 | 0,56 | 32,27 |
| | DP | 0,26 | 0,16 | 0,03 | 0,79 | 0,17 | 0,01 | 0,53 | 0,31 | 0,02 | 0,07 | 2,22 | 0,11 | 3,57 |
| **DCL 07** | M | 1,12 | 0,92 | 5,99 | 14,44 | 1,92 | 2,50 | 21,08 | 65,49 | 5,51 | 3,50 | 17,69 | 0,20 | 16,37 |
| | DP | 0,09 | 0,07 | 0,03 | 0,25 | 1,03 | 0,07 | 0,52 | 1,15 | 0,19 | 0,10 | 0,87 | 0,02 | 1,39 |
| **DCL 08** | M | 3,22 | 2,49 | 6,34 | 15,84 | 0,41 | 2,45 | 20,30 | 66,75 | 6,37 | 3,72 | 22,75 | 0,73 | 43,57 |
| | DP | 0,14 | 0,18 | 0,04 | 0,32 | 0,71 | 0,26 | 0,34 | 1,84 | 1,36 | 0,89 | 2,68 | 0,07 | 2,42 |
| **DCL 11** | M | 2,54 | 1,98 | 6,36 | 15,66 | 1,17 | 2,34 | 22,27 | 66,40 | 4,87 | 2,96 | 22,13 | 0,56 | 34,66 |
| | DP | 0,10 | 0,03 | 0,02 | 0,19 | 0,14 | 0,04 | 0,46 | 0,37 | 0,05 | 0,05 | 1,85 | 0,07 | 1,11 |
| **DCL 14** | M | 2,32 | 1,94 | 6,41 | 15,47 | 1,18 | 2,16 | 19,00 | 67,41 | 6,04 | 4,21 | 16,35 | 0,38 | 31,75 |
| | DP | 0,45 | 0,38 | 0,02 | 0,99 | 0,29 | 0,09 | 0,42 | 0,83 | 0,12 | 0,05 | 0,57 | 0,07 | 7,28 |
| **LFM 634** | M | 3,35 | 2,60 | 6,29 | 19,72 | 0,07 | 2,71 | 26,42 | 64,27 | 5,11 | 2,53 | 22,32 | 0,75 | 36,39 |
| | DP | 0,12 | 0,09 | 0,01 | 1,05 | 0,01 | 1,42 | 0,65 | 0,96 | 0,09 | 0,04 | 0,33 | 0,03 | 2,34 |
| **RMP 851-A** | M | 4,42 | 3,99 | 6,40 | 17,10 | 0,00 | 2,76 | 16,66 | 63,99 | 9,11 | 7,49 | 9,68 | 0,43 | 53,28 |
| | DP | 0,15 | 0,12 | 0,02 | 0,18 | 0,00 | 2,12 | 2,41 | 1,44 | 1,36 | 0,85 | 0,66 | 0,04 | 1,40 |
| **RMP 1256** | M | 2,52 | 2,07 | 6,22 | 15,83 | 0,35 | 0,27 | 24,67 | 66,21 | 5,84 | 2,65 | 17,77 | 0,45 | 33,63 |
| | DP | 0,08 | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,38 | 0,06 | 0,55 | 0,63 | 0,57 | 0,10 | 2,28 | 0,07 | 1,28 |
| **RMP 1305** | M | 2,35 | 2,18 | 6,29 | 22,08 | 51,85 | 0,67 | 3,59 | 31,84 | 7,78 | 4,26 | 6,93 | 0,16 | 21,49 |
| | DP | 0,04 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 6,49 | 0,59 | 1,47 | 2,94 | 1,44 | 0,72 | 1,07 | 0,03 | 0,48 |
| **RMP 1315** | M | 2,29 | 1,99 | 6,20 | 17,38 | 0,00 | 3,21 | 21,63 | 64,02 | 8,50 | 2,64 | 13,06 | 0,30 | 27,93 |
| | DP | 0,14 | 0,07 | 0,06 | 0,36 | 0,00 | 0,25 | 0,39 | 1,62 | 1,54 | 0,23 | 2,50 | 0,08 | 1,29 |
| **RMP 1316** | M | 2,46 | 2,07 | 6,24 | 15,80 | 1,73 | 3,30 | 26,77 | 52,84 | 10,96 | 4,40 | 15,75 | 0,39 | 32,62 |
| | DP | 0,29 | 0,21 | 0,02 | 0,34 | 2,99 | 0,42 | 5,98 | 16,43 | 5,62 | 1,49 | 1,56 | 0,08 | 3,36 |
| **RMP 1321** | M | 2,44 | 2,04 | 6,24 | 16,27 | 0,11 | 2,67 | 22,44 | 64,18 | 7,78 | 2,82 | 16,43 | 0,40 | 31,62 |
| | DP | 0,27 | 0,22 | 0,04 | 0,51 | 0,02 | 0,19 | 1,46 | 0,74 | 2,30 | 0,07 | 1,57 | 0,06 | 3,92 |
| **RMP 1484** | M | 3,20 | 2,51 | 6,23 | 19,28 | 0,09 | 2,04 | 22,09 | 69,45 | 3,92 | 2,42 | 21,43 | 0,69 | 35,37 |
| | DP | 0,26 | 0,21 | 0,02 | 0,13 | 0,02 | 0,43 | 1,99 | 0,75 | 2,92 | 0,03 | 0,61 | 0,06 | 2,68 |
| **RMP 1486** | M | 3,11 | 2,51 | 6,27 | 17,42 | 0,03 | 2,35 | 23,04 | 66,15 | 5,60 | 2,83 | 19,36 | 0,60 | 37,89 |
| | DP | 0,06 | 0,05 | 0,03 | 0,24 | 0,06 | 0,51 | 0,68 | 0,84 | 0,12 | 0,17 | 2,49 | 0,09 | 1,07 |
| **SCU 99** | M | 4,82 | 4,35 | 6,36 | 16,49 | 2,39 | 0,21 | 14,45 | 55,37 | 14,02 | 13,55 | 9,76 | 0,47 | 60,38 |
| | DP | 0,09 | 0,08 | 0,01 | 0,11 | 0,22 | 0,05 | 2,80 | 0,48 | 0,83 | 4,06 | 0,59 | 0,03 | 1,55 |
| **SCU 101** | M | 4,66 | 4,03 | 6,45 | 21,71 | 0,13 | 1,90 | 17,71 | 58,39 | 10,90 | 10,97 | 13,56 | 0,63 | 44,80 |
| | DP | 0,06 | 0,07 | 0,03 | 0,32 | 0,01 | 1,62 | 1,82 | 2,01 | 0,62 | 0,78 | 0,59 | 0,02 | 0,29 |
| **SCU 164** | M | 3,17 | 2,72 | 6,41 | 14,30 | 4,32 | 1,46 | 8,86 | 66,11 | 10,35 | 8,90 | 14,19 | 0,45 | 46,70 |
| | DP | 0,23 | 0,18 | 0,02 | 1,22 | 0,51 | 0,04 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,24 | 1,15 | 0,06 | 6,86 |
| **TSM 33** | M | 2,61 | 2,38 | 6,24 | 16,90 | 0,39 | 0,92 | 19,67 | 63,44 | 10,14 | 5,45 | 8,97 | 0,23 | 31,99 |
| | DP | 0,18 | 0,15 | 0,07 | 2,07 | 0,25 | 0,95 | 1,83 | 0,60 | 2,09 | 2,98 | 0,30 | 0,02 | 1,86 |
| **TSM 36** | M | 2,59 | 2,31 | 6,26 | 16,22 | 0,06 | 1,10 | 17,94 | 65,99 | 9,79 | 5,11 | 10,78 | 0,28 | 32,99 |
| | DP | 0,15 | 0,10 | 0,02 | 0,34 | 0,11 | 1,39 | 2,93 | 5,80 | 0,41 | 2,97 | 1,33 | 0,05 | 2,15 |
| **TSM 45** | M | 2,58 | 2,03 | 6,26 | 16,99 | 0,10 | 0,22 | 22,37 | 68,10 | 5,85 | 3,39 | 21,33 | 0,55 | 32,43 |
| | DP | 0,24 | 0,16 | 0,02 | 0,35 | 0,00 | 0,17 | 0,49 | 0,68 | 0,15 | 0,22 | 1,29 | 0,08 | 2,68 |
| **TSM 49** | M | 2,80 | 2,30 | 6,24 | 18,83 | 0,12 | 2,74 | 23,29 | 73,43 | 0,26 | 0,15 | 17,67 | 0,49 | 31,33 |
| | DP | 0,40 | 0,32 | 0,07 | 0,21 | 0,02 | 0,40 | 0,67 | 1,08 | 0,32 | 0,19 | 1,03 | 0,08 | 4,70 |

**Tabela 7** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Glicerol.

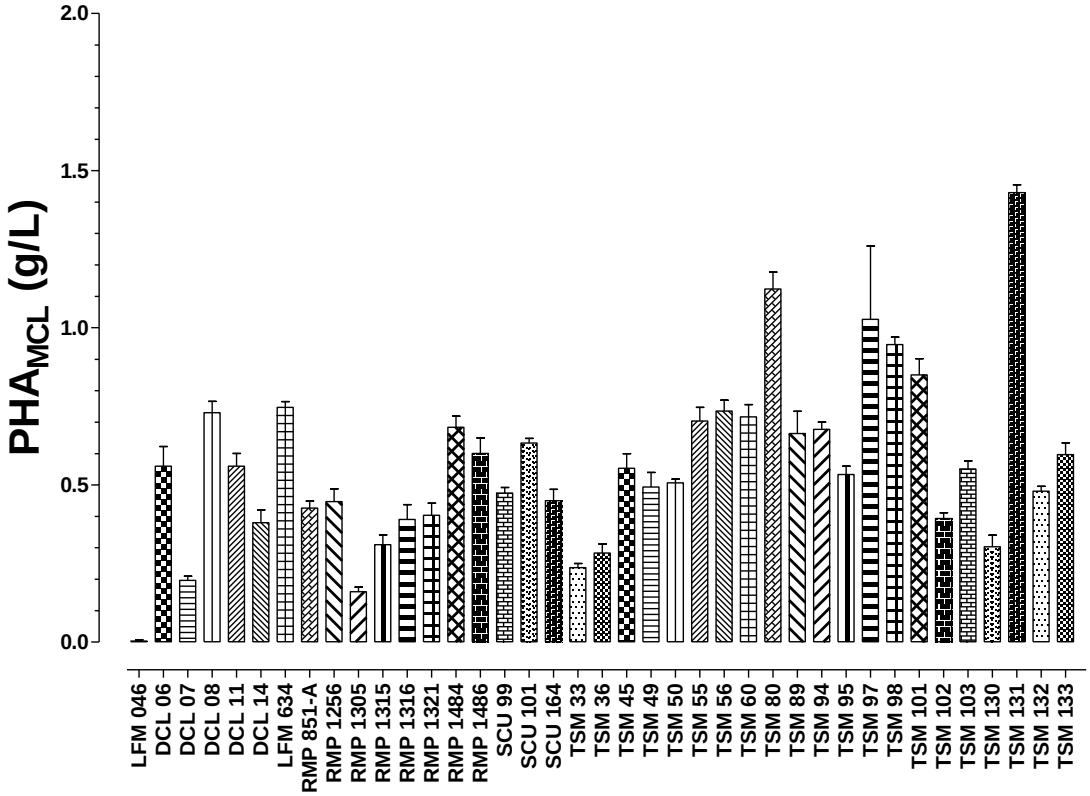
(conclusão)

| | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | | (g/L) | (g/L) | | Cons. (g/L) | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| TSM 50 | M | 2,76 | 2,24 | 6,35 | 14,82 | 1,81 | 2,49 | 21,40 | 65,26 | 5,37 | 3,66 | 18,53 | 0,51 | 39,31 |
| | DP | 0,04 | 0,05 | 0,03 | 0,08 | 1,48 | 0,05 | 0,12 | 1,24 | 0,17 | 0,08 | 0,86 | 0,02 | 0,77 |
| TSM 55 | M | 2,95 | 2,25 | 6,22 | 15,21 | - | 2,58 | 20,50 | 65,26 | 7,40 | 4,26 | 23,84 | 0,70 | 42,13 |
| | DP | 0,32 | 0,25 | 0,02 | 1,18 | - | 0,28 | 1,48 | 0,43 | 1,14 | 0,29 | 0,83 | 0,08 | 8,13 |
| TSM 56 | M | 3,30 | 2,81 | 6,23 | 15,35 | 0,45 | 2,74 | 22,96 | 67,69 | 5,80 | 3,55 | 19,41 | 0,73 | 46,49 |
| | DP | 0,27 | 0,55 | 0,05 | 0,17 | 0,02 | 0,35 | 0,76 | 1,16 | 0,29 | 0,51 | 1,21 | 0,05 | 7,36 |
| TSM 60 | M | 2,88 | 2,17 | 6,03 | 18,15 | 1,21 | 2,51 | 20,82 | 63,36 | 4,52 | 2,69 | 24,76 | 0,72 | 34,26 |
| | DP | 0,12 | 0,06 | 0,00 | 0,59 | 0,04 | 0,13 | 0,17 | 1,10 | 0,96 | 0,92 | 1,38 | 0,07 | 1,38 |
| TSM 80 | M | 3,97 | 2,85 | 6,02 | 18,34 | 0,00 | 1,02 | 14,26 | 72,60 | 7,92 | 4,20 | 28,28 | 1,12 | 47,21 |
| | DP | 0,09 | 0,01 | 0,01 | 0,14 | 0,00 | 0,08 | 0,54 | 2,22 | 1,58 | 0,67 | 1,80 | 0,09 | 1,28 |
| TSM 89 | M | 3,31 | 2,65 | 6,06 | 18,65 | 0,99 | 2,64 | 19,19 | 68,01 | 6,13 | 3,04 | 20,01 | 0,66 | 37,78 |
| | DP | 0,59 | 0,47 | 0,01 | 0,44 | 0,11 | 0,05 | 0,33 | 1,14 | 1,13 | 0,30 | 0,17 | 0,12 | 7,51 |
| TSM 94 | M | 3,14 | 2,46 | 6,01 | 18,84 | 0,98 | 2,46 | 21,42 | 60,62 | 9,71 | 4,81 | 21,62 | 0,68 | 35,66 |
| | DP | 0,04 | 0,00 | 0,01 | 1,40 | 0,49 | 0,17 | 0,51 | 1,49 | 0,95 | 0,62 | 0,99 | 0,04 | 2,31 |
| TSM 95 | M | 2,87 | 2,34 | 6,24 | 17,22 | 0,08 | 1,76 | 17,95 | 75,00 | 4,76 | 0,45 | 18,46 | 0,53 | 35,32 |
| | DP | 0,09 | 0,05 | 0,03 | 0,25 | 0,00 | 0,04 | 0,55 | 3,13 | 3,54 | 0,02 | 1,06 | 0,04 | 1,02 |
| TSM 97 | M | 3,92 | 2,89 | 6,21 | 18,54 | 0,02 | 1,62 | 16,42 | 73,23 | 6,26 | 2,46 | 25,48 | 1,03 | 45,43 |
| | DP | 0,86 | 0,46 | 0,02 | 1,13 | 0,04 | 0,09 | 1,58 | 0,49 | 0,70 | 1,78 | 5,24 | 0,40 | 8,28 |
| TSM 98 | M | 3,12 | 2,17 | 6,30 | 10,94 | 0,22 | 1,36 | 17,32 | 75,96 | 1,95 | 3,19 | 30,45 | 0,95 | 62,50 |
| | DP | 0,23 | 0,19 | 0,02 | 0,86 | 0,03 | 0,02 | 1,13 | 1,71 | 2,81 | 0,14 | 1,06 | 0,04 | 4,00 |
| TSM 101 | M | 3,00 | 2,15 | 6,28 | 16,32 | 0,00 | 1,11 | 15,35 | 70,75 | 8,45 | 4,33 | 28,54 | 0,85 | 40,04 |
| | DP | 0,50 | 0,43 | 0,01 | 0,76 | 0,00 | 0,21 | 1,69 | 3,46 | 1,47 | 0,76 | 2,85 | 0,09 | 5,89 |
| TSM 102 | M | 3,89 | 3,49 | 6,04 | 16,47 | 0,18 | 2,13 | 18,29 | 64,34 | 11,90 | 3,15 | 10,08 | 0,39 | 48,71 |
| | DP | 0,16 | 0,15 | 0,02 | 0,20 | 0,02 | 0,38 | 1,25 | 1,67 | 0,39 | 0,32 | 0,64 | 0,03 | 2,49 |
| TSM 103 | M | 2,74 | 2,19 | 6,38 | 16,47 | 0,49 | 1,29 | 15,38 | 73,86 | 5,44 | 3,54 | 20,21 | 0,55 | 35,35 |
| | DP | 0,25 | 0,22 | 0,01 | 0,44 | 0,45 | 0,06 | 1,31 | 1,73 | 0,12 | 0,18 | 0,98 | 0,05 | 2,32 |
| TSM 130 | M | 2,98 | 2,67 | 6,29 | 15,48 | 0,75 | 2,36 | 18,10 | 67,05 | 5,69 | 6,05 | 10,11 | 0,30 | 39,95 |
| | DP | 0,52 | 0,46 | 0,08 | 0,68 | 0,18 | 2,35 | 3,07 | 0,48 | 1,97 | 2,89 | 0,52 | 0,06 | 8,52 |
| TSM 131 | M | 4,60 | 3,17 | 6,22 | 17,42 | 0,66 | 1,32 | 15,73 | 88,01 | 4,24 | 4,52 | 31,18 | 1,43 | 58,06 |
| | DP | 0,22 | 0,21 | 0,01 | 1,03 | 1,15 | 0,02 | 1,04 | 3,33 | 3,20 | 0,47 | 1,53 | 0,04 | 3,12 |
| TSM 132 | M | 2,36 | 1,88 | 6,28 | 16,62 | 0,11 | 2,33 | 21,18 | 67,53 | 7,39 | 1,45 | 20,24 | 0,48 | 30,13 |
| | DP | 0,12 | 0,10 | 0,01 | 0,41 | 0,00 | 0,25 | 0,31 | 1,69 | 0,27 | 1,87 | 0,11 | 0,03 | 1,27 |
| TSM 133 | M | 2,58 | 1,98 | 6,27 | 17,50 | 0,77 | 2,71 | 20,63 | 64,94 | 5,84 | 5,10 | 23,15 | 0,60 | 31,62 |
| | DP | 0,36 | 0,29 | 0,00 | 0,13 | 0,27 | 0,02 | 0,37 | 0,55 | 0,34 | 0,30 | 0,77 | 0,07 | 4,32 |

MSC – Massa seca celular. 3HB - 3-hidroxibutirato. 3HHx – 3-hidroxihexanoato. 3HO – 3-hidroxioctanoato. 3HD – 3-hidroxidecanoato. 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 – 3-hidroxi-5-dodecenoato. Xr – Concentração residual. XPHA – Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos. pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72H. %MSC – Percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica . M – Média. DP – Desvio Padrão.

FONTE: (RODRIGUES, 2012)

**Figura 11 –** Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando glicerol.




Produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolado de referência LFM 046 (*Pseudomonas aeruginosa*) e por diversos isolados de lodo de esgoto e solo do Campus Universitário. Todos os cultivos foram realizados em meio mineral por período de 72 horas, Glicerol foi utilizado como única fonte de carbono. Os dados estão representados como média ± desvio padrão, $n = 3$.
FONTE: (RODRIGUES 2013)

### *5.2.5 A partir de Xilose*

Em continuidade a este trabalho, os isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164 foram selecionados para ensaios de acúmulo em agitador rotativo, e após resultados obtidos, ensaios em reator; pois como relatado anteriormente, a xilose poderá se constituir como um dos carboidratos disponíveis em grandes quantidades no Brasil, caso os processos de produção de álcool de segunda geração sejam estabelecidos. Desta forma, o uso de xilose, como fonte de carbono, poderá contribuir para a redução dos custos de produção destes polímeros, uma vez que a viabilidade econômica da produção de álcool de segunda geração dependerá da utilização efetiva da xilose na geração de bioprodutos (DIAS et al., 2010).

A literatura descreve a utilização de xilose para produção de $PHA_{MCL}$ apenas em linhagens recombinantes de *Pseudomonas,* expressando genes do metabolismo deste carboidrato (LE MEUR et al., 2012).

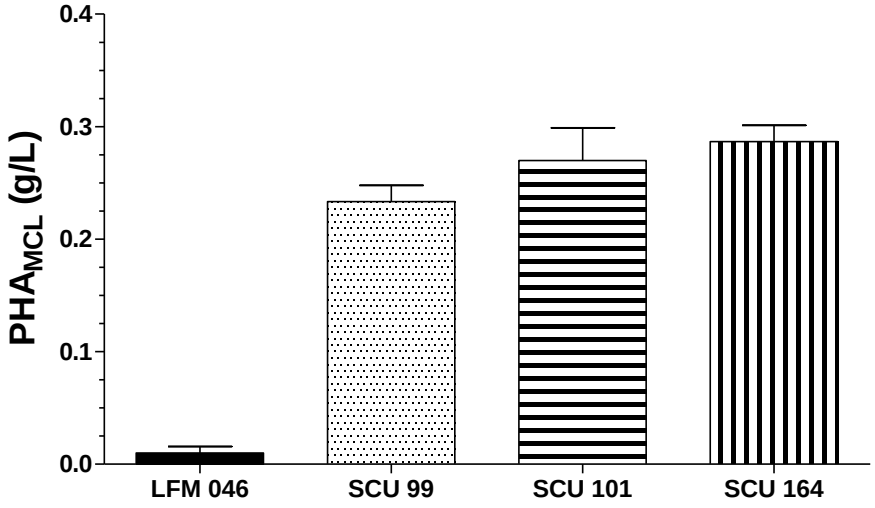
O isolado controle (LFM 046) não apresentou bom desempenho na produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose (Figura 11). Os três isolados (SCU99, SCU101 e SCU164) capazes de produzir PHAs em meio sólido, também foram avaliados com relação à produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose. As concentrações de PHA atingidas foram em torno de 0,2-0,3 g/L e o teor de polímero correspondeu a 7-9% da massa seca celular (Tabela 8 - Figura 11 – Todos os resultados obtidos em triplicata encontram-se no Apêndice A). A eficiência de conversão de xilose em PHAMCL ficou entre 34 e 37% do valor máximo teórico. Embora a produção de $PHA_{MCL}$ por estes isolados não tenha sido excepcional, a inexistência de dados prévios na literatura (LE MEUR et al., 2012), descrevendo a capacidade de bactérias selvagens produzirem $PHA_{MCL}$, utilizando xilose como substrato, tornam estes resultados extremamente relevantes. Vale ainda destacar que o isolado SCU 99 apresentou desempenho destacado para a produção de $PHA_{MCL}$ a partir de glicose, frutose e glicerol.

**Tabela 8** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Xilose e 1 g/L de Sulfato de amônio $(NH_4)_2SO_4$.

| | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MSC | $X_R$ | pH | Xil. Cons. | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | YMax% |
| Isolados | | g/L | (g/L) | | (g/L) | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| LFM 046 | M | 0,84 | 0,83 | 7,18 | 1,77 | 0,00 | 52,82 | 12,14 | 35,04 | 0,00 | 0,00 | 1,18 | 0,01 | ND |
| | DP | 0,39 | 0,39 | 0,04 | 0,89 | 0,00 | 43,04 | 10,52 | 33,16 | 0,00 | 0,00 | 1,21 | 0,01 | - |
| SCU 99 | M | 2,87 | 2,64 | 3,74 | 14,28 | 4,78 | 0,81 | 8,37 | 73,05 | 0,70 | 12,30 | 8,11 | 0,23 | 37,05 |
| | DP | 0,16 | 0,14 | 0,02 | 0,54 | 0,14 | 0,60 | 1,88 | 1,91 | 0,46 | 0,68 | 0,37 | 0,02 | 3,36 |
| SCU 101 | M | 2,65 | 2,45 | 3,53 | 14,46 | 0,00 | 3,34 | 6,19 | 63,06 | 1,26 | 26,15 | 7,36 | 0,19 | 34,00 |
| | DP | 0,06 | 0,16 | 0,01 | 0,30 | 0,00 | 3,99 | 5,45 | 27,16 | 1,33 | 22,72 | 4,13 | 0,11 | 2,72 |
| SCU 164 | M | 3,12 | 2,84 | 3,85 | 15,45 | 3,30 | 2,11 | 6,49 | 78,44 | 0,65 | 9,02 | 9,18 | 0,29 | 36,85 |
| | DP | 0,26 | 0,26 | 0,03 | 0,64 | 0,06 | 0,31 | 4,60 | 6,49 | 0,47 | 6,53 | 0,85 | 0,02 | 4,61 |

MSC – Massa seca celular. 3HB - 3-hidroxibutirato. 3HHx – 3-hidroxihexanoato. 3HO – 3-hidroxioctanoato. 3HD – 3-hidroxidecanoato. 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 – 3-hidroxi-5-dodecenoato. Xr – Concentração residual. XPHA – Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos. pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72H. %MSC – Percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. M – Média. DP – Desvio Padrão. ND – não determinado.
FONTE: (RODRIGUES, 2013)

**Figura 12 –** Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ por diferentes isolados utilizando 15 g/L de Xilose e 1,0 g/L de Sulfato de amônio $(NH_4)_2SO_4$.




Produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolado de referência LFM 046 (*Pseudomonas aeruginosa*) e por três diferentes isolados do solo do Campus Universitário. Todos os cultivos foram realizados em meio mineral por período de 72 horas. Xilose foi utilizada como única fonte de carbono. Os dados estão representados como média ± desvio padrão, *n* = 3.
FONTE: (RODRIGUES 2013)

Observou-se uma redução drástica no pH das culturas produzindo $PHA_{MCL}$ a partir de xilose (Tabela 8). Desta forma, foi avaliada ainda a produção com uma menor concentração de sulfato de amônio (0,5 g/l), de forma a tentar diminuir a redução no pH e permitir um melhor acúmulo de PHA (Tabela 9). Embora esta estratégia não tenha refletido em aumento significativo no acúmulo de $PHA_{MCL}$ nos isolados SCU 99 e SCU 101, ao analisar os resultados obtidos pelo isolado SCU 164, é possível observar aumento significativo (P = 0,05) no teor de $PHA_{MCL}$ acumulado (Tabela 9 - Figura 13A), quando sulfato de amônio foi suprido na concentração de 0,5 g/l. Contudo, a análise da concentração de $PHA_{MCL}$ indicou redução neste parâmetro nos três isolados cultivados na condição com menor suplemento de nitrogênio. Assim, embora um pequeno aumento no teor de polímero tenha sido observado para um dos isolados, a concentração de PHA foi significativamente menor devido à menor formação de biomassa residual com o suprimento de menores quantidades do nutriente limitante do crescimento. Deve-se destacar ainda que mesmo com a redução da multiplicação celular, ainda se observou redução significativa do pH do meio de cultura, indicando que esta alteração no pH pode não estar diretamente relacionada ao crescimento celular, mas à formação de algum subproduto a partir do excesso de xilose suprida.

De qualquer forma, estes isolados despertam grande interesse para a produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose em biorreatores, onde parâmetros como: aeração, pH e

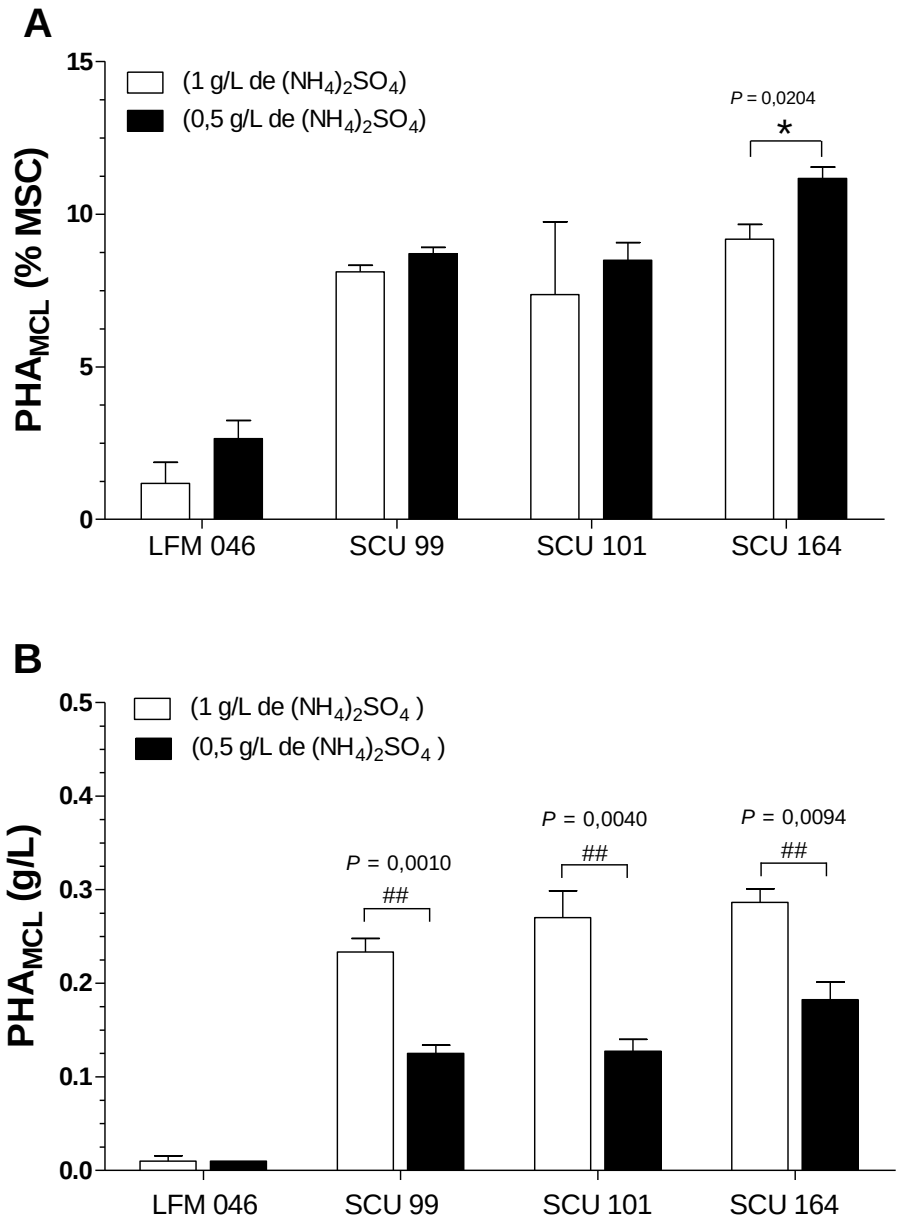
concentração de nutrientes podem ser controlados em intervalos adequados, visando a melhor condição para acúmulo e crescimento. Além disso, estes isolados poderiam ser utilizados na construção de linhagens recombinantes capazes de produzir P3HB-*co*-$3HA_{MCL}$ a partir de xilose.

**Tabela 9** – Produção de $PHA_{MCL}$ por *Pseudomonas* sp. LFM 046 e isolados a partir de Xilose e 0,5 g/L de Sulfato de amônio $(NH_4)_2SO_4$.

| | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MSC | $X_R$ | pH | Xilose | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | | (g/L) | (g/L) | | Cons. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| LFM 046 | M | 0,40 | 0,39 | 7,18 | 1,71 | 27,05 | 52,41 | 20,54 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,65 | 0,01 | ND |
| | DP | 0,05 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 38,25 | 29,18 | 9,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,84 | 0,01 | - |
| SCU 99 | M | 1,41 | 1,28 | 3,87 | 10,96 | 3,83 | 1,10 | 8,51 | 62,16 | 14,70 | 9,71 | 8,71 | 0,13 | 27,3 |
| | DP | 0,30 | 0,27 | 0,05 | 0,45 | 1,07 | 0,33 | 0,97 | 0,67 | 0,27 | 0,09 | 0,10 | 0,03 | 5,69 |
| SCU 101 | M | 1,54 | 1,41 | 3,43 | 11,96 | 1,74 | 1,94 | 9,20 | 64,07 | 13,99 | 9,05 | 8,48 | 0,13 | 25,33 |
| | DP | 0,30 | 0,28 | 0,02 | 0,73 | 2,07 | 0,32 | 0,43 | 1,17 | 0,26 | 0,30 | 1,17 | 0,02 | 3,4 |
| SCU 164 | M | 1,63 | 1,45 | 3,80 | 10,41 | 4,91 | 1,69 | 8,40 | 66,67 | 8,23 | 10,10 | 11,17 | 0,18 | 31,14 |
| | DP | 0,30 | 0,26 | 0,05 | 0,77 | 0,77 | 0,72 | 0,73 | 3,67 | 5,20 | 0,61 | 0,73 | 0,04 | 5,08 |

MSC – Massa seca celular. 3HB - 3-hidroxibutirato. 3HHx – 3-hidroxihexanoato. 3HO – 3-hidroxioctanoato. 3HD – 3-hidroxidecanoato. 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 – 3-hidroxi-5-dodecenoato. Xr – Concentração residual. XPHA – Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos. pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72H. %MSC – Percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica – Não determinado (ND). M – Média. DP – Desvio Padrão. ND – não determinado.
FONTE: (RODRIGUES, 2013)

**Figura 13** – Avaliação da produção de $PHA_{MCL}$ do isolado SCU 164 a partir de xilose em meio mineral com diferentes concentrações da fonte de nitrogênio - $(NH_4)_2SO_4$.




Produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolado de referência LFM 046 (*Pseudomonas aeruginosa*) e por três diferentes isolados do solo do Campus Universitário, em meio mineral com diferentes concentrações da fonte de nitrogênio, padrão (1 g/L de $(NH_4)_2SO_4$) e reduzida (0,5 g/L de $(NH_4)_2SO_4$). Todos os cultivos foram realizados por período de 72 horas, xilose foi utilizada como única fonte de carbono. (A) Análise da % de $PHA_{MCL}$ em relação à MSC total. (B) Quantidade de $PHA_{MCL}$ em relação à MSC total. Os dados estão representados como média ± desvio padrão, $n$ = 3. *P<0,05 *vs*. Concentração de nitrogênio reduzida, ##P<0,01 *vs.* Concentração de nitrogênio padrão. (Teste t).

FONTE: (RODRIGUES 2013)

### 5.3 Sequenciamento do rDNA 16S

Em continuidade aos experimentos utilizando xilose como única fonte de carbono, este açúcar foi selecionado, uma vez que, esta fonte pode apresentar-se em abundância em um futuro próximo, principalmente, se a produção de etanol de segunda geração for estabelecida. Assim, o rDNA do 16S dos isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164 foram amplificados e sequenciados com o objetivo de indicar a que espécie de *Pseudomonas* pertencem.

As sequências obtidas com os primers 27F (625 nucleotídeos) e 1401R (621 nucleotídeos) foram alinhadas (Apêndice B) e apresentaram identidade total entre os três isolados, indicando que se trata de uma mesma linhagem isolada de forma independente.

A busca por sequências similares a estes genes em banco de dados (GenBank) revelou resultados diferentes dependendo da região analisada. Utilizando as sequências obtidas a partir do primer 27F, os dez alinhamentos que indicavam maior similaridade correspondiam a rDNA 16S de 8 linhagens de *Pseudomonas* sem identificação da espécie e duas linhagens de *Pseudomonas taiwanensis*. Utilizando as sequências obtidas a partir do primer 1401R, os dez alinhamentos que indicavam maior similaridade correspondiam a rDNA 16S de sete linhagens de *Pseudomonas* sem identificação da espécie e três linhagens de *Pseudomonas putida*. Em todos os casos, cobria-se 99-100% da sequência utilizada para busca (625 nucleotídeos para 27F e 621 nucleotídeos para 1401R) e detectava-se identidade de 99%.

O alinhamento da sequência obtida com o primer 27F e o rDNA 16S de *P. putida* NBRC 102093 (maior similaridade com a sequência obtida com o primer 1401R) revelou que, com uma cobertura de 100% dos 625 nucleotídeos, a identidade foi de 99%. A análise inversa, isto é, o alinhamento da sequência obtida com o primer 1401R e o rDNA 16S de *P. taiwanensis* AS1-81a (quinta maior similaridade com a sequência obtida com o primer 27F) revelou que, com a cobertura de 602 nucleotídeos dos 621 (97%), a identidade é de 98%.

Wang et al (2010) descreveram a descoberta de uma nova espécie de *Pseudomonas*, a *P. taiwanensis* isolado de solo da Universidade Tamkang - Taiwan. Não há relatos ainda sobre o grau de patogenicidade desta espécie.

*Pseudomonas putida*, segundo a classificação alemã de procariotos, pertence ao grupo de risco 2, sendo assim, um microrganismo com moderado risco de agravo à saúde humana e animal, possuindo baixo risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente. Entretanto, *P. putida* é classificada como GRAS (Generally Recognized As Safe) (PUCHALKA et al., 2008).

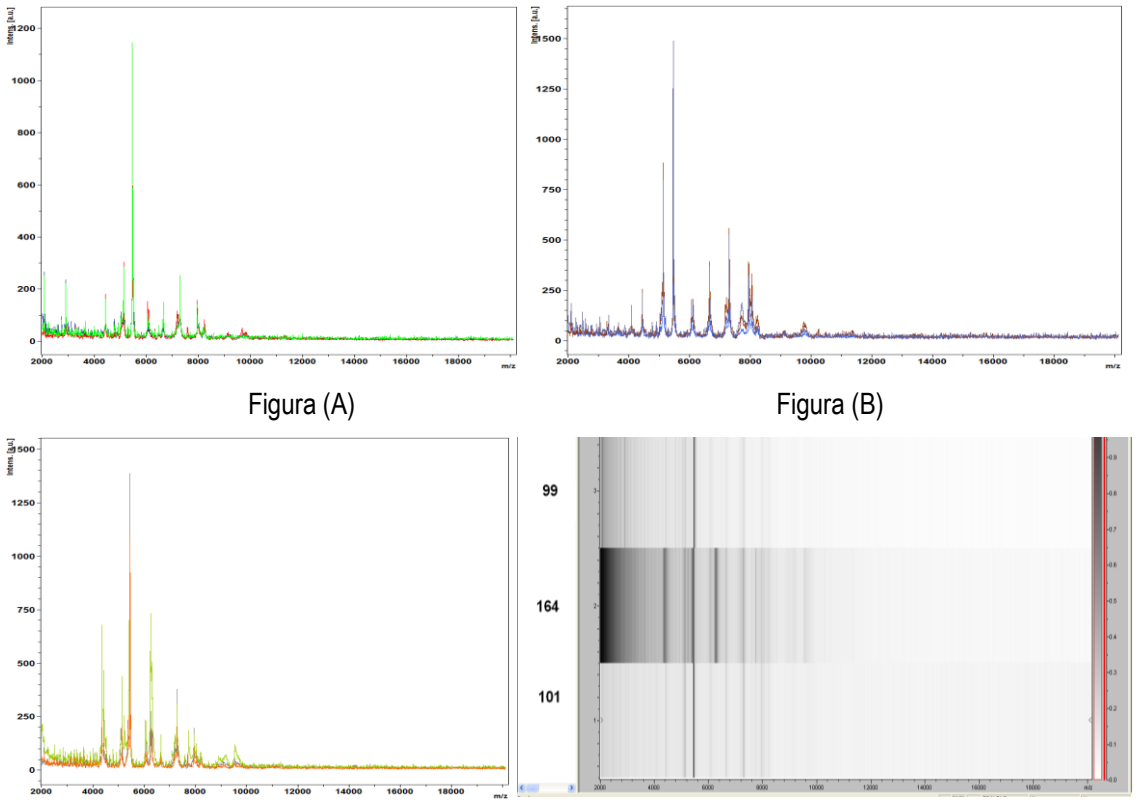
## 5.4 Técnica MALDI-TOF-MS

Na tentativa de identificar a que gênero pertencem os isolados SCU 99, 101 e 164, selecionados para a continuidade deste trabalho, estes foram submetidos à análise da técnica MALDI-TOF-MS (Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight – Mass Spectrometry).

A análise da técnica MALDI-TOF-MS permite a analise de macromoléculas biológicas, que são importantes marcadores na classificação e identificação de um organismo. Proteínas provenientes de eletroforese dos isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164 foram preparadas e colocadas separadamente em uma placa com matriz e bombardeado a laser, que o evapora o material genético; um sistema ioniza e aspira o material volatilizado, que ao chegar aos detectores, registram o tempo e a quantidade de material detectado. Cada patógeno tem um espectro e um tempo de chegada (Time of Flight – ”tempo de vôo”), que é analisado por um software e comparado a dados de um banco por análise estatística multivariada; a comparação é feita através de referência de cepas conhecidas, isso que confere resultados rápidos e confiáveis (PASTERNAK, 2012).

Os resultados obtidos para os três isolados mostram que os isolados SCU 99 e 101 são parecidos, já o isolado SCU 164 mostrou um perfil diferente do isolado SCU99 e SCU 101 (Figura 14).

**Figura 14** – Identificação dos isolados SCU 99, SCU 101 e SCU164, através do teste MALDI-TOF-MS (Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight – Mass Spectrometry).




MALDI-TOF-MS - Espectros de massas obtidos para a identificação dos isolados de Solo do Campus Universitário. Os espectros de massas estão apresentados nas figuras, SCU 99 (Fig. A), SCU 101 (Fig. B) e SCU 164 (Fig. C). Sobreposição dos picos dos 3 espectros na figura D.

Fonte: (RODRIGUES, 2013)

O teste MALDI-TOF-MS tem sido utilizado rotineiramente em hospitais nos últimos anos, para o diagnóstico rápido de patógenos, e assim sua terapia adequada (PASTERNAK, 2012). Os resultados obtidos para os isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164 não chegou a uma nenhuma classificação. Acredita-se que devido às espécies pertencentes ao banco de dados, serem predominantemente de microrganismos patogênicos, isolados de ambiente hospitalar, e os isolados SCUs serem provenientes de área ambiental, sugere-se que o banco de dados ainda não possui uma ampla quantidade de espécies catalogadas, e assim não chegou a uma classificação confiável. Um dado interessante, é que ao se observar a sobreposição dos

espectros (Figura 13 – D) observa-se que o isolado SCU 164 tem picos diferentes dos isolados SCU 99 e SCU 101. O que se pode tratar de espécies diferentes.

### 5.5 Antibiograma

Os isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164 foram submetidos a teste de verificação da resistência a antibióticos, através do teste de sensibilidade por disco de difusão (BAUER et al., 1966) em ágar Müller-Hinton (antibiograma). Este procedimento foi realizado, uma vez que, o isolado SCU 164, escolhido para realização de ensaios em biorreator, ainda não tinha sido avaliado quanto à resistência aos diferentes tipos de antibióticos. Como os três isolados foram identificados, através da análise do gene rDNA 16S, como pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, os antibióticos utilizados para este testes foram os mesmos utilizados para os testes em *Pseudomonas aeruginosa*. As figuras que ilustram os aspectos dos cultivos SCU 99, SCU 101 e SCU 164, encontram-se no APÊNDICE C.

A ausência da formação do halo indica que o crescimento da colônia foi inibido, e essa é resistente ao antibiótico. Para os discos contendo halos, estes foram medidos, com auxílio de uma régua, e foram analisados de acordo com o Manual Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI, 2011). A partir dos resultados, os isolados foram classificados como resistentes, intermediários ou sensíveis aos antibióticos. Os resultados obtidos se encontram no Quadro 2.

**Quadro 2** – Resultados das análises dos halos formados, de acordo com o Manual Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI) de 2011, de antibiograma dos isolados SCU 99, 101 e 164.

| Isolados - Diâmetro de Halo (mm) - Resultados | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Antibiótico** | **Sigla** | **SCU 99** | | **SCU 101** | | **SCU 164** | |
| Cotrimoxazol | SUT | sem halo | *R* | sem halo | *R* | sem halo | *R* |
| Piperciclina + Tazobactan | PPT | **28** | *S* | **27** | *S* | **29** | *S* |
| Cefoperazone | CFP | **23** | *S* | **21** | *I* | **24** | *S* |
| Ceftazidima | CAZ | **25** | *S* | **23** | *S* | **26** | *S* |
| Cefepima | CPM | **25** | *S* | **24** | *S* | **25** | *S* |
| Aztreonama | ATM | **19** | *I* | **18** | *I* | **20** | *I* |
| Ticarciclina + Ác. Clavulânico | TIC | **17** | *S* | **14** | *I* | **18** | *S* |
| Ciprofloxacina | CIP | **33** | *S* | **35** | *S* | **33** | *S* |
| Gentamicina | GEN | **27** | *S* | **27** | *S* | **28** | *S* |
| Amicacina | AMI | **28** | *S* | **29** | *S* | **28** | *S* |
| Meropenen | MER | **24** | *S* | **24** | *S* | **25** | *S* |
| Imipenema | IPM | **34** | *S* | **30** | *S* | **29** | *S* |

**Nota**: Sensível (S), Intermediário (I) e Resistente (R).

Resultados das análises dos halos formados, de acordo com o Manual Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI) de 2011, de antibiograma dos isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164. As análises em meio sólido foram realizadas em triplicata.

FONTE: (RODRIGUES, 2013)

Inicialmente, demonstra-se que, embora os três isolados não fossem distinguidos pela análise da sequência do rDNA 16S, estes apresentam perfil de resistência aos antibióticos avaliados parecidos para os isolados SCU 99 e SCU 164, e distinto do isolado SCU 101. O que pode sugerir que se trata de linhagens bacterianas diferentes.

Os resultados indicam que os três isolados possuem resistência somente ao Cotrimoxazol (SUT), uma associação de sulfametoxazol (sulfoamida) e trimeoprim, que tem ação bacteriostática. O efeito intermediário foi observado nos três isolados somente para ao antibiótico Aztreonama (ATM). Para o isolado SCU 101, houve resistência intermediária a outros dois antibióticos: a Ticarcilina e ácido clavulânico (TIC), penicilinas anti-pseudomônicas e ao Cefoperazona (CFP), cefalosporina de 3ª geração.

A sensibilidade aos antibióticos testados se deu na grande maioria dos isolados, isso mostra em caso de um acidente laboratorial, envolvendo um dos três isolados, os antibióticos utilizados serão os que são comumente utilizados na prática clínica, Cefalosporinas de 3ª geração e Carbapenens β-lactâmicos (ANVISA, 2013).

*Pseudomonas putida* ainda é considerada detentora de menor risco a saúde, devido aos poucos relatos publicados, entretanto, o conhecimento de sua resistência é de extrema importância para a prevenção e tratamento de possíveis acidentes em projetos envolvendo o uso deste isolado na produção de $PHA_{MCL}$ em testes laboratoriais.

## 5.5 Produção de $PHA_{MCL}$ em biorreator a partir de Xilose

Ensaios em biorreator são interessantes, uma vez que esta estratégia permite maior controle de diversos parâmetros como: pH, oxigênio dissolvido e oferta de nutrientes, entre outros. Considerando que o isolado SCU 164 apresentou maior teor de acúmulo de PHA, utilizando xilose, em comparação aos isolados SCU 99 e 101, ensaios em biorreator utilizando este isolado foram realizados (Figura 15A e 15B). Xilose foi selecionada como única fonte de carbono, pois se houver o estabelecimento da produção do etanol de segunda geração, teremos este resíduo em abundância para diversas finalidades e, o uso para produção de bioplásticos, pode tornar o preço competitivo.

O cultivo em biorreator da linhagem SCU 164 pode ser dividido em três fases. A primeira fase corresponde à fase de crescimento celular, na qual não há limitação de nitrogênio. Na fase de crescimento, o nutriente limitante para a produção de PHAs, o nitrogênio, foi consumido após 24 horas de cultivo no primeiro experimento (Figura 17A) e, após 30 horas de cultivo no segundo experimento (Figura 17B). Nesta fase, observa-se aumento exponencial da biomassa residual (biomassa total menos PHA). Na fase de crescimento, observa-se a formação exponencial de PHA, que atingiu cerca de 4-5% da massa seca celular, indicando que este isolado produz PHA mesmo sob condições não limitantes do crescimento.

Na fase seguinte, o nitrogênio se torna limitante e o PHA é acumulado de forma mais expressiva, atingindo cerca de 10% da massa seca celular. Na terceira fase, os dois experimentos apresentaram resultados distintos. Enquanto no experimento I (Figura 15A) observa-se um aumento da concentração de PHA embora a uma taxa muito menor, no experimento II (Figura 15B) não se observa aumento dessa concentração. A concentração de PHA produzido atingiu cerca de 0,5-0,7 g/L, correspondente a 11-14 % da massa seca celular. Os resultados obtidos nos ensaios 1 e 2 em biorreator encontram-se no APÊNDICEA.

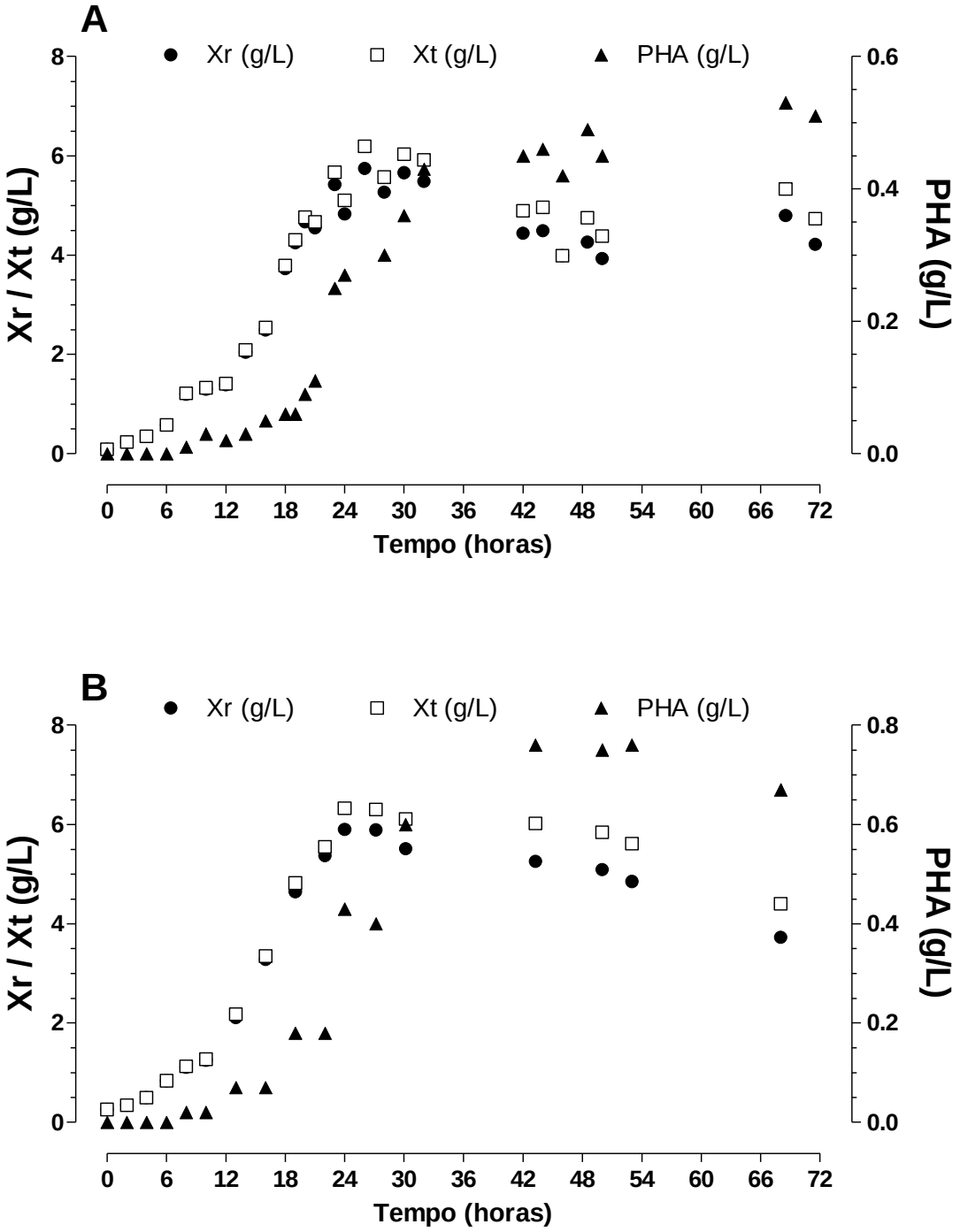
A composição do polímero nos dois ensaios sofreu mudanças ao longo do tempo (Figura 16A e 16B). Contudo, nos dois experimentos os monômeros começam a se estabilizar com cerca de 30 horas de ensaio; o principal constituinte observado foi 3HD, com cerca de 60%.

Adições de xilose foram realizadas com o objetivo de manter sua concentração no meio em torno de 15g/L e suprir fonte de carbono em excesso para proporcionar o acúmulo mais expressivo de PHA. A xilose consumida no primeiro experimento correspondeu a 50 g/L após 72 horas de cultivo (Figura 18).

Os resultados obtidos se tornam relevantes, uma vez que, a literatura relata produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose somente em cepas recombinantes (*Pseudomonas putida* KT2440) e a partir de alimentação sequencial, ou seja, utilizaram xilose como substrato para crescimento e ácido octanóico como precursor para a produção de $PHA_{MCL,}$ atingindo $PHA_{MCL}$ correspondendo a cerca de 20% da massa seca celular (LE MEUER et al., 2012). Nesse mesmo trabalho, o PHA produzido por esta cepa apresentou 3HO (87%) como principal constituinte, ao invés de 3HD, principal monômero produzido em *Pseudomonas* spp., a partir de carboidratos, ou seja, confirmando que o PHA foi produzido a partir do ácido octanóico e não da xilose.

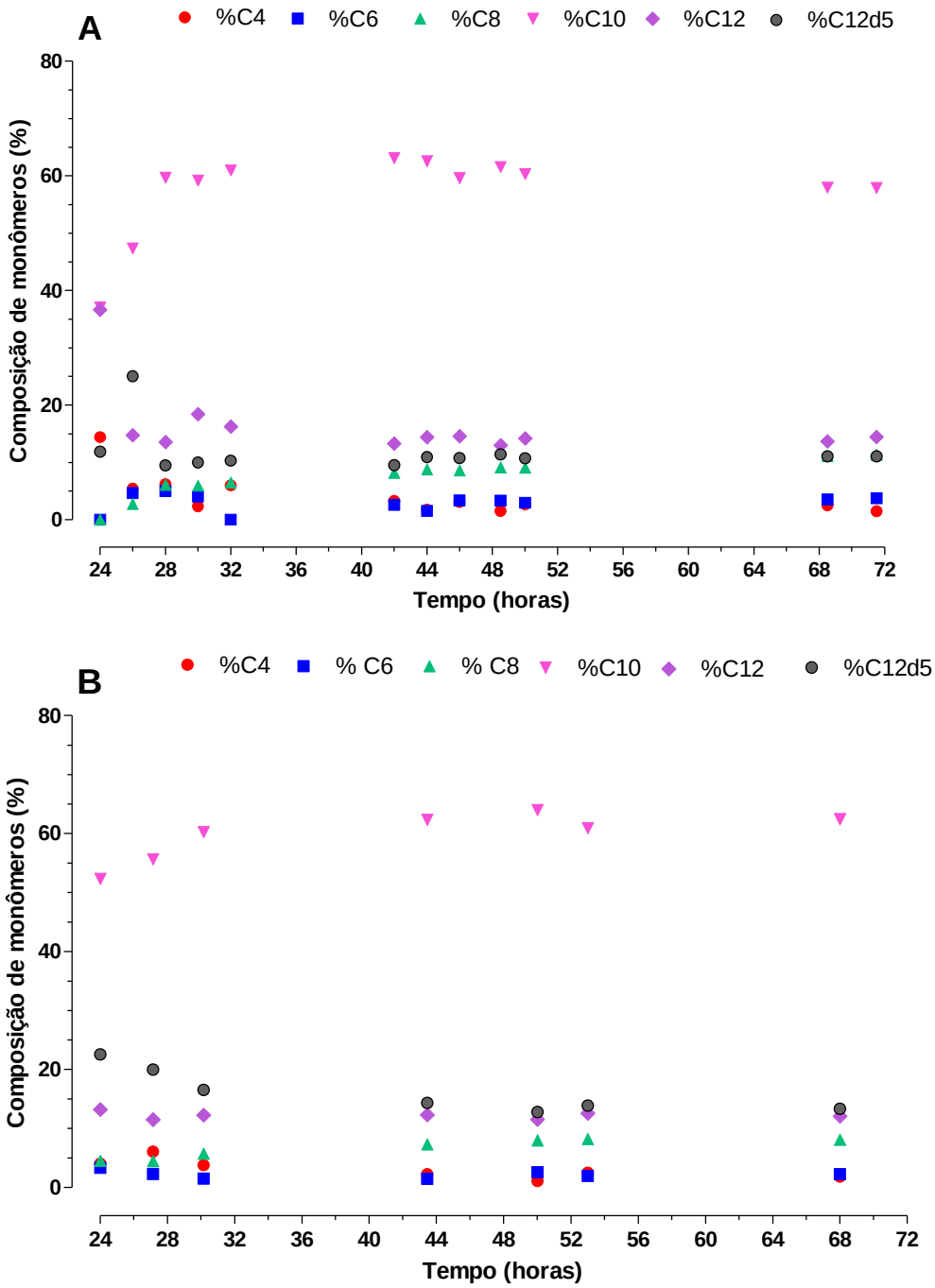
Apesar dos resultados ainda modestos de produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose, estudos futuros deverão explorar o potencial dessa linhagem utilizando outras estratégias de cultivo. Uma vez que a produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose pelo isolado SCU 164 é associada ao crescimento celular, poderá ser estabelecida condição de cultivo que explore essa característica, utilizando-se cultivos contínuos ou ainda em batelada com alimentação linear da fonte de carbono e de um nutriente limitante, que impõem um regime de crescimento e acúmulo simultâneos.

**Figura 15** – Produção de PHA a partir de xilose pela linhagem SCU 164. São apresentados os resultados em dois experimentos independentes (A e B).



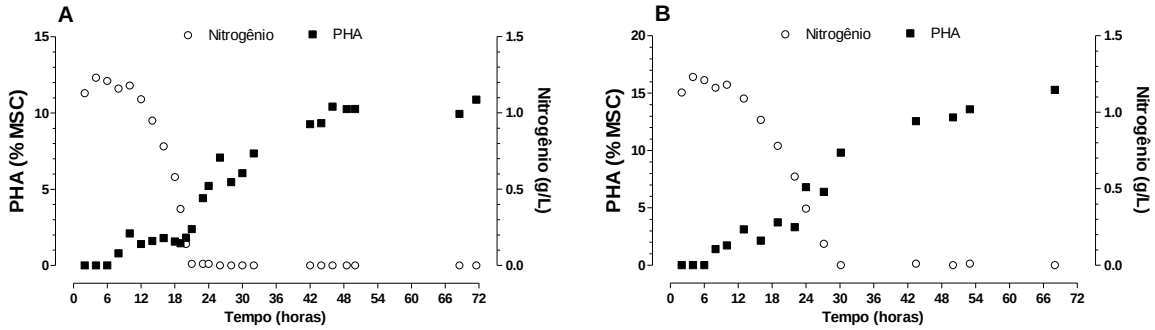

Variação da concentração de biomassa total (Xt), biomassa residual (Xr) e PHA produzido pelo isolado SCU 164 no ensaio em biorreator com xilose, (A) ensaio 1, (B) ensaio 2.
Fonte: (RODRIGUES, 2013)

**Figura 16** – Variação da composição do polímero ao longo dos ensaios em reator pelo isolado SCU 164, utilizando xilose como única fonte de carbono. São apresentados os resultados em dois experimentos independentes (A e B).



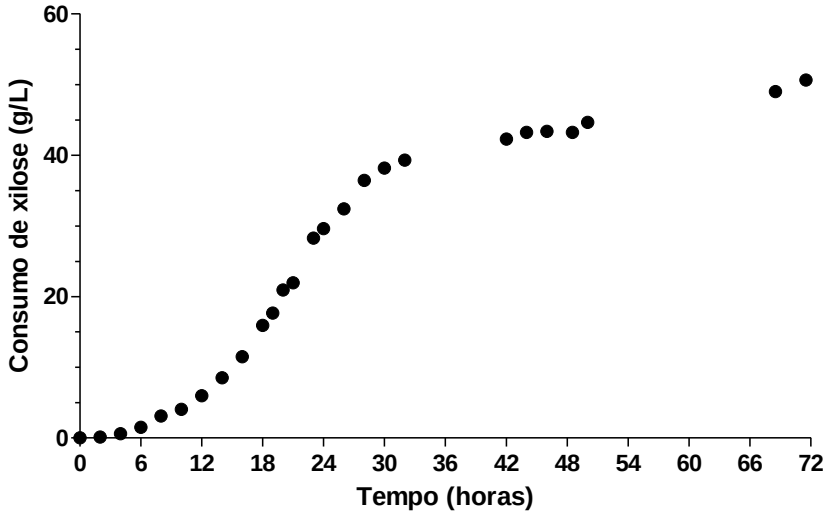

Variação da composição dos monômeros ao longo dos experimentos pelo isolado SCU 164, utilizando xilose como única fonte de carbono. (A) ensaio 1, (B) ensaio 2.
Fonte: (RODRIGUES, 2013)

**Figura 17** – Consumo de nitrogênio e teor de PHA acumulado a partir de xilose pela linhagem SCU 164 em ensaios independentes em biorreator.




Variação da concentração de nitrogênio e produção de %PHA pelo isolado SCU 164 em ensaio em biorreator com xilose, (A) ensaio 1, (B) ensaio 2.
Fonte: (RODRIGUES, 2013)

**Figura 18** – Consumo de xilose pela linhagem SCU 164 em biorreator.




Consumo de xilose pelo isolado SCU 164 após 72 horas.
Fonte: (RODRIGUES, 2013)

## 5.6 Construção de linhagens recombinantes do isolado SCU 164 abrigando os genes *xyl* AB e *xyl*FGH

Para avaliar se a inserção de um maior número de cópias dos genes responsáveis pelo catabolismo (*xylAB*) e metabolismo (*xylFGH)* proporcionaria um aumento importante na capacidade de consumo desse carboidrato pelo isolado SCU 164, ensaios de acúmulo com o isolado selvagem e linhagens recombinantes foram realizados (Tabela 10 – APÊNDICE A).

A análise dos resultados obtidos com a linhagem recombinante que recebeu os genes *xylAB* (cinco clones independentes) e *xylFGH* (quatro clones independentes) demonstrou que a inserção dos genes não resultou em uma melhora na eficiência de conversão da xilose no polímero (Figura 19).

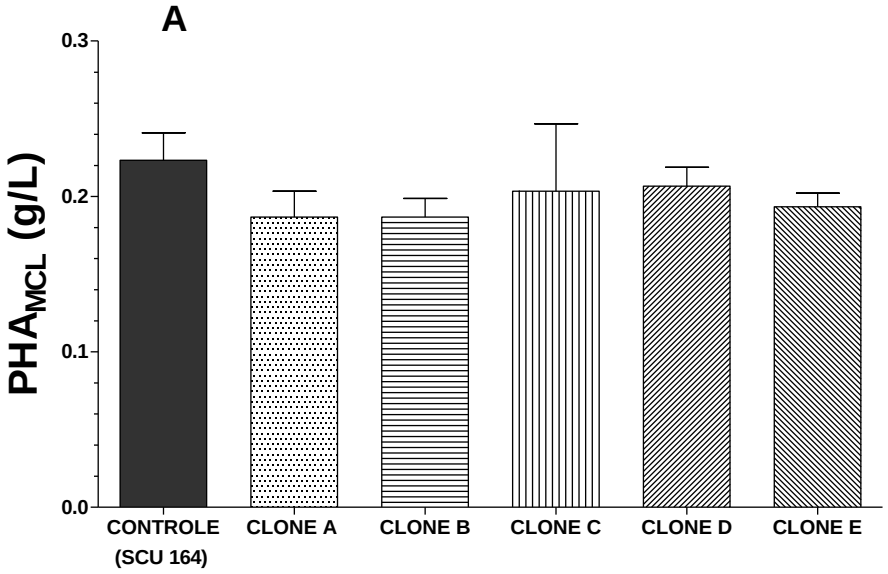
*Pseudomonas putida* S12 teve os genes *xylAB* e *xylFGH* inseridos em seu genoma, resultou em linhagens recombinantes mais eficientes no consumo de xilose (MEIJINEN; WINDE; RUIJSSENAARS, 2008). Os genes *xylAB* tornaram essa bactéria capaz de metabolizar arabinose e uma mistura de glicose e xilose.

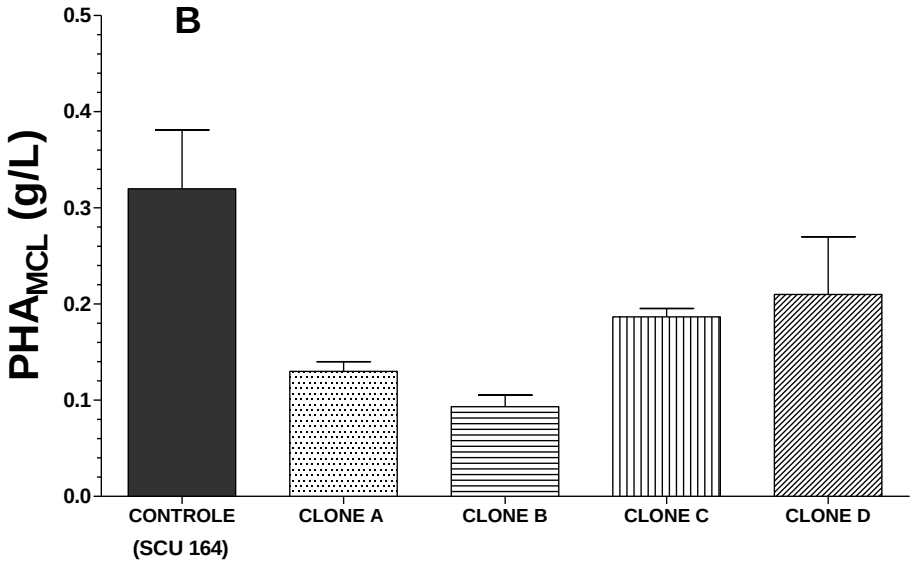
**Tabela 10** – Produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolados SCU 164 a partir de Xilose, após a inserção de *xyl* AB.

| | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MSC | $X_R$ | pH | Xilose | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA |
| ISOLADO | | (g/L) | (g/L) | | Cons. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) |
| SCU 164 | M | 3,12 | 2,90 | 5,30 | 15,45 | 3,30 | 2,11 | 6,49 | 78,44 | 0,65 | 9,02 | 9,18 | 0,29 |
| WILD | DP | 0,26 | 0,24 | 0,93 | 0,64 | 0,06 | 0,31 | 4,60 | 6,49 | 0,47 | 6,53 | 0,85 | 0,02 |
| CLONE A | M | 2,95 | 2,77 | 4,84 | 9,14 | 4,20 | 2,12 | 5,68 | 50,61 | 20,56 | 16,84 | 7,21 | 0,21 |
| | DP | 0,22 | 0,21 | 0,04 | 0,74 | 0,40 | 0,24 | 0,30 | 0,83 | 1,37 | 2,26 | 0,65 | 0,01 |
| CLONE B | M | 2,99 | 2,80 | 4,77 | 8,77 | 0,00 | 2,39 | 6,03 | 55,30 | 22,95 | 13,32 | 6,26 | 0,19 |
| | DP | 0,09 | 0,10 | 0,03 | 0,21 | 0,00 | 2,45 | 1,05 | 2,89 | 1,88 | 1,52 | 0,95 | 0,02 |
| CLONE C | M | 3,06 | 2,86 | 4,74 | 8,99 | 3,70 | 1,64 | 6,17 | 55,23 | 16,05 | 17,22 | 6,24 | 0,19 |
| | DP | 0,85 | 0,77 | 0,08 | 0,26 | 3,30 | 1,70 | 0,68 | 3,77 | 10,57 | 7,89 | 0,89 | 0,05 |
| CLONE D | M | 3,13 | 2,92 | 4,83 | 9,17 | 4,24 | 1,36 | 6,54 | 53,14 | 21,35 | 13,37 | 6,58 | 0,21 |
| | DP | 0,14 | 0,12 | 0,03 | 0,33 | 0,97 | 1,18 | 1,45 | 1,16 | 1,37 | 0,70 | 0,81 | 0,02 |
| CLONE E | M | 2,95 | 2,95 | 4,76 | 8,49 | 2,98 | 0,62 | 6,22 | 54,53 | 21,84 | 13,78 | 6,63 | 0,20 |
| | DP | 0,07 | 0,07 | 0,09 | 0,31 | 2,69 | 1,07 | 0,55 | 1,61 | 1,18 | 0,84 | 0,53 | 0,02 |

MSC – Massa seca celular. 3HB - 3-hidroxibutirato. 3HHx – 3-hidroxihexanoato. 3HO – 3-hidroxioctanoato. 3HD – 3-hidroxidecanoato. 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 – 3-hidroxi-5-dodecenoato. Xr – Concentração residual. XPHA – Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos. pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72H. %MSC – Percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica – Não determinado (ND). M – Média. DP – Desvio Padrão.

**Figura 19 –** Avaliação da superexpressão do gene *xylAB e xylFGH* na produção de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose, apresentado em dois experimentos independentes (A e B).




Produção de $PHA_{MCL}$ em linhagens recombinantes do isolado SCU 164; os genes *xylAB* (A) *e xylFGH* (B) foi superexpresso em diferentes clones a partir do isolado controle. Todos os cultivos foram realizados em meio mineral por período de 72 horas, xilose foi utilizada como única fonte de carbono, *n* = 3.
FONTE: (RODRIGUES 2013)

# 6 CONCLUSÕES

- Isolados de *Pseudomonas* avaliados foram incapazes de utilizar eficientemente sacarose, lactose e amido para produção de $PHA_{MCL}$, indicando que são carentes de genes que codificam enzimas como invertase, β-galactosidase e amilase.
- Frutose e glicose foram utilizadas para produção de $PHA_{MCL}$ por diversos isolados, entretanto, nenhum deles apresentou desempenho superior à linhagem controle (LFM046).
- A linhagem controle (LFM046) não foi capaz de utilizar eficientemente glicerol para a produção de $PHA_{MCL}$, entretanto diversos isolados foram.
- Pela primeira vez, foram detectados isolados selvagens com capacidade de produzir $PHA_{MCL}$ a partir de xilose.
- O sequenciamento do rDNA 16S dos isolados produtores de $PHA_{MCL}$ a partir de xilose indicou que devem pertencer ao gênero *Pseudomonas*, estando próximos de *P. putida* ou *P. taiwanensis*. Entretanto, o sequenciamento completo do gene do rDNA 16S, bem como outras análises, serão necessárias para confirmar a identidade destes isolados.
- A superexpressão de genes *xylAB* e *xylFGH* não levou a aumento da produção de $PHA_{MCL}$ pelo isolado SCU164 a partir de xilose, indicando que este não é o passo limitante para produção desse polímero.
- Cultivos em biorreator com o isolado SCU 164 demonstraram acúmulo de $PHA_{MCL}$ associado ao crescimento celular, entretanto, estudos adicionais deverão ser realizados para explorar o potencial de produção desta linhagem bacteriana.

# REFERÊNCIAS*

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Antimicrobianos: base teórica e uso clínico.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/polimixinas5.htm>. Acesso em: 23 nov. 2013.

ALDOR, I. S.; KEASLISNG, J. D. Process desing for microbial plastic factories: metabolic engineering of Polyhydroxyalkanoates. **Curr. Op. Biotechnol**., v. 14, p. 475-483, 2003.

ALMEIDA, K. L. **Produção de ramnolipídios por isolados de *Pseudomonas*: avaliação do efeito das fontes de carbono e nitrogênio na composição do ramnolípidio.** 2011. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ANDERSON, A. J.; DAWES, E. A. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. **Microbiology,** v. 54, p. 450-472, 1990. Review.

APPLIED BIOSYSTEMS (Org). **Espectrometria de massas e suas aplicações**. São Paulo: Abi Expert Training Center, 2005. 40p.

ARRUDA, P. V.; RODRIGUES, R. C. L. B.; FELIPE, M. G. A.; Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, n. 26, 2006.

BAPTIST, J. N. Process for preparing poly-β-hydroxybutyric acid. **US Patent Application**. US 3036959, 1962.

AUSSCHUSS FÜR BIOLOGISCHE ARBEITSSTOFFE. (BAUA). Disponível em: <http://www.baua.de/nn_15226/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/pdf/TRBA -466.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2013.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol**., v. 36, p. 493-496, 1966.

BIOCYCLE - **PHB Industrial**. Disponível em: <http://www.biocycle.com.br/site.htm>. Acesso em: 10 set. 2013.

BUSCARIOLLO, B. N. **Avaliação da diversidade microbiana da Fundação Parque Zoológico de São Paulo visando à obtenção de bactérias produtoras de Polihidroxialcanoatos.** 2013. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 2013.

BRANDL, H.; GROSS, R. A.; LENZ, R. W.; FULLER, R. C. Plastics from bacteria and for bacteria: Poly (β-hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible, and biodegradable polyesters. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol**., v. 41, p. 77-93, 1990.

*De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BRAUNEGG, G.; LEFEBVRE, G.; GENSER, K. F. Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: physiological and engineering aspects. **Journal of Biotechnolgy**, v. 65, p. 127-161, 1998.

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

CASTRO, I. P.; BINGER, D.; RODRIGUES, A.; BECKER, J.; SANTOS, V. A. M.; WITTMANN, C. In-silico-driven metabolic engineering of Pseudomonas putida for enhanced production of poly-hydroxyalkanoates. **Metabolic Engineering**, v. 15, p. 113-123, 2013.

CHEEMA, S.; BASSAS-GALIA, M.; SARMA, P. M.; LAL, B.; ARIAS, S. Exploiting metagenomic diversity for novel polyhydroxyalkanoate synthases: production of a terpolymer poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate-co-3-hydroxyoctanoate) with a recombinant *Pseudomonas putida* strain. **Bioresour. Technol.,** v.103, n. 1, p. 322-328, 2012.

CLSI - **Clinic and laboratiry Standards Institute. Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-first informational supplenment**. CSI document M100-S21. WAYNE, P. A.: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BISSEGURANÇA. **CTNBio.** Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/3913.html>. Acesso em: 18 nov. 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **CONAB**. Estudo de Prospecção de Mercado, Safra 2012/2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 18 nov. 2013.

COSTA, S. G.; LÉPINE, F.; MILOT, S.; DÉZIEL, E.; NITSCHKE, M.; CONTIERO, J. Cassava wastewater as a substrate for the simultaneous production of rhamnolipids and polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas aeruginosa.* **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.,** v. 36, n. 8, p. 1063-1072, 2009.

DE KONING, G. J. M.; KELLERHALS, M.; VAN MEURS, C. *et al*. A process for the recovery of poly(3-hydroxyalkanoates) from Pseudomonads. Process development and economic evalution. **Bioproc. Eng**. v.17, p. 15-21, 1997.

DE SMET, M. J.; EGGINK, G.; WITHOLT, B.; KINGMA, J.; WYNBERG, H. Characterization of intracellular inclusions formed by Pseudomonas oleovorans during growth on octane. **J. Bacteriol**., v. 154, n. 2, p. 870-878. 1983.

DIAS, J. M.; LEMOS, P. C.; SERAFIM, L. S.; OLIVEIRA, C.; EIROA, M.; ALBUQUERQUE, M. G.; OLIVEIRA, R.; REIS, M. A. Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures: from the substrate to the final product**. Macromol Biosci**., v. 6, n. 11, p. 885-906, 2006. Review.

DIAS, M. O. S.; CUNHA, M. P.; MACIEL FILHO, R.; BONOMI, A.; JESUS, C. D. F; ROSSELL, C. E. V. Simulation of $1^{ST}$ and $2^{ND}$ generation production from sugarcane: comparison between different biomass pretreatment methods. In: SIMPÓSIO DE BIOTECNOLOGIA PARA COMBUSTÍVEIS E PRODUTOS QUÍMICOS, 32., 2010. **Anais...** Claearwater Beach, Florida, EUA, 2010.

EGGINK, G.; WAARD, P.; HUIJBERTS, G. N. M. Formation of novel poly (hydroxyalkanoates) from long-chain fatty acids. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BACTERIAL POLYHYDROXYALKANOATES, 4., 1995, Montreal, **Abstracts…** Montreal: Canadian Journal of Microbiology, p. 14-21. Suppl.1995.

ERBEZNIK, M.; HUDSON, S. E.; HERRMAN, A. B.; STROBEL, H. J. Molecular analysis of the xylFGH Operon, Coding for Xylose ABC Transport, in Thermoanaerobacter ethanolicus. **Current Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 295-299, 2004.

EUGENIO, L. I.; ESCAPA, I. F.; MORALES, V.; DINJASKI, N.; GALÁN, B.; GARCIA, J. I.; PRIETO, M. A. The turnover of medium-chain-lenght polyhydroxyalkanoates in *Pseudomonas putida* KT2442 and the fundamental role of PhaZ depolymerase for metabolic balance. **Environ. Microbiology**, v. 12, p. 2007-2221, 2010.

FENG, L.; WATANABE, T.; WANG, Y.; KICHISE, T.; FUKUCHI, T.; CHEN, G. Q.; DOI, Y.; INOUE, Y. Studies on comonomer compositional distribution of bacterial poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)s and thermal characteristics of their factions. **Biomacromolecules,** v.3, p. 1071-1077, 2002.

FONSECA, G. G.; SILVA, L. F. S; GOMEZ, J. G. C. Biodegradable polyesters from cheese whey. **Advances in Cheese Whey Utilization**, 2008.

FONSECA, G. G. **Produção de polilhidroxialcanoatos por *Escherichia coli* recombinante.** Dissertação (Mestrado) – 2003. 178 f. Curso de pós-graduação em Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2003.

FREIRE, R. K. B. **Construção de bactérias recombinantes para produzir etanol e biopolímeros a partir de açúcares derivados do hidrolisado do bagaço de cana-de-açúcar.** 2012. 132f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

NACIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. (GenBank). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>. Acesso em: 13 dez. 2013.

GOMES, R. S. **Obtenção de mutantes deficientes no acúmulo de PHA e construção de linhagens recombinantes para o controle da composição monomérica**. 2009. 100 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

GOMEZ, J. G. C.; MÉNDEZ, B. S.; PABLO, I.N.; PETTINARI, M. J.; PIETRO, M. A; SILVA, L. F. Making green even greener: towards sustainable production of polyhydroxyalkanoates from agroindustrial by-products, In: **Advances in Applied Biotecnology**. Ed. Marian Petre, chapter 3, p.41-62, 2012.

GOMEZ, J. G. C.; BUENO NETTO, C. L. Produção de poliésteres bacterianos. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. (Coord.). **Biotecnologia industrial**: processo fermentativos e enzimáticos. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2001. v. 3, p. 219-248.

GOMEZ, J. G. C. **Produção por *Pseudomonas* sp. de polihidroxialcanoatos contendo monômeros de cadeia média a partir de carboidratos:** avaliação da eficiência, modificação da composição e obtenção de mutantes. 2000. 155 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

GOMEZ, J. G. C.; RODRIGUES, M. F. A.; ALLI, R. C. P.; TORRES, B. B.; BUENO NETTO, C. L.; OLIVEIRA, M. S.; SILVA, L. F. Evaluation of soil gram-negative bacteriayielding polyhydroxyalkanoic acidsfrom carbohydrates and propionic acid. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. v. 45, p. 785—791. 1996.

HAGE JR, E. Aspectos históricos sobre o desenvolvimento da ciência e da tecnologia de polímeros. **Polímeros (online)**, v. 8, p. 6-9, 1998. ISSN 0104–1428.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P.; FISCHER, B. D.; **Microbiolgia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

HAYWOOD, G. W.; ANDERSON, A. J.; EWING, D. F.; DAWES, E. A. Accumulation of polyhydroxyalkanoate containing primarily 3-hydroxydecanoate from simple carbohydrate substrates by Pseudomonas sp. Strain NCIMB 40135. **Applied Environment Microbiology**, v. 56, p. 3354-3359, 1990.

HONNA, C. Y. **Obtenção e análise de mutantes de *Pseudomonas aeruginosa* afetados na biossíntese de ramnolipídeos.** 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

HUISMAN, G. W. et al. Synthesis of polyhydroxyalkanoates is a common feature of fluorescent pseudomonads. **Appl. Environ. Microbial**., v. 55, p. 1949-1954, 1989.

JEFFRIES, T. W. Engineering yeasts for xylose metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 17, p. 320-326, 2006.

JENDROSSEK, D. Polyhydroxyalkanoate (PHA) granules are complex subcellular organelles (carbonosomes). **J. Bacteriol**., v. 191, p. 3195-3202, 2009.

JIN, Y.; NI, H.; LAPLAZA, J. M.; JEFFRIES, T. Xylulokinase overexpression in two strains of *saccharomyces cerevisiae* also expressing xylose reductase and xylitol dehydrogenase and its effect on fermentation of xylose and lignocellulosic hydrolysate. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 495-503, 2003.

KABILAN, S.; AYYASAMY, M.; JAYAVEL, S.; PARAMASAMY, G. *Pseudomonas sp*. As a Source of Medium Chain Length Polyhydroxyalkanoates for Controlled Drug Delivery: Perspective. **International Journal of Microbiology**. 2012. doi:10.1155/2012/317823.

KILL, K.; BINNEWIES, T. T.; WILLENBROCK, H.; HANSEN, S. K.; YANG, L.; JELSBAK., USSERKY, D. W.; FRIIS, C. Comparative Genomics of *Pseudomonas.* In: REHM, B. H. A. (Ed.). **Pseudomonas**: model organism, pathogen, cell factory. New Zealand: Wiley-VCH, 2008. v. 1, p. 1-24.

KHANNA, S.; SRIVSTAVA, A. K. Recent advances in microbial Polyhydroxyalkanoates. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 607-619, 2005.

KIM, D. Y.; KIM, H. W.; CHUNG, M. G.; RHEE, Y. H. Biosynthesis, modification, and biodegradation of bacterial medium-chain-lenght polyhydroxyalkanoates. **J. Microbiol.** v. 45, p. 87-97, 2007.

KOLLER, M.; SALERNO, A.; MUHR, A.; REITERER, A.; CHIELLINI, E.; CASELLA, S.; HORVAT, P.; BRAUNEGG, G. Whey lactose as raw material for microbial production of biodegradable polyesters. **Materials Science –** Polymers- Polyester. 2012.

KOVAC, M. E.; ELZER, P. H.; HILL, D. S. et al. Four new derivatives of the broad host-range cloning vector pBBR1MCS, carring different anbiotic-resistence cassettes. **Gene**. v. 166, p. 175-176, 1995.

KRUEGER, C. L. **Seleção de linhagens de *Bacillus* produtoras de polihidroxialcanoatos a partir de residuo do processamento da mandioca**. 2009. 114 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2009.

LEE, S. Y. Plastic bacteria? Progress and prospects for polyhydroxyalkanoate production in bacteria. **Tibtech**, v. 14, p. 431-438, 1996b.

LE MEUR, S.; ZINN, M.; EGLI, T.; THONY-MEYER, L.; REN, Q. Production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates by sequential feeding of xylose and octanoic acid in engineered *Pseudomonas putida* KT2440. **BMC Biotechnol.** v. 12, n. 1, p. 1-12, 2012

LEMOIGNE, M. Produits de deshydration et depolymerisation de l'acide b-oxobutyrique.Bull. **Soc. Chem. Biol**. **(Paris)**, v. 8, p. 770–782, 1926.

LíCIO, D. C. P. **Isolamento de bactérias produtoras de polihidroxialcanoatos e caracterizção molecular de sua PHA sintase**. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

LOPES, M. S. G**. Produção de plásticos biodegradáveis utilizando hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar**. 2010. 128 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

LUENGO, J. M.; GARCIA, B.; SANDOVAL, A.; NAHARRO, G.; OLIVEIRA, E. R. Bioplastics from microorganisms. **Curr. Opin. Microbiol.,** v. 3, p. 251-260. 2003. Review.

MADKOUR, M. H.; HEINRICH, D.; ALGHAMDI, M. A.; SHABBAJ, I. I.; STEINBÜCHEL, A. PHA Recovery from Biomass. **BioMacromolecules**, v. 14, p. 2963-2972, 2013. Review.

MARTINEZ, V.; LA PEÑA, F.; HIDALGO, J. G.; LA MATA. I.; GARCIA, J. L.; PRIETO, M. A. Identification and Biochemical Evidence of a Medium-Chain-Lenght Polyhydroxyalkanoate Despolymerase in the *Bdellvidrio bacteriovorus* Predatory Hydrolytic Arsenal. **Appl. Environ. Microbiol**., v. 78, n. 17, p. 6017, 2012.

MATSUDA, T. S. **Isolamento de bactérias produtoras de polihidroxialcanoatos de cadeia curta e média a partir de óleos vegetais**. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MCCOLL, G. J.; CANNON, M. C. Polyhydroxyalkanoate inclusion body-associated proteins and coding region in *Bacillus megaterium*. **Journal of bacteriology**. v. 181, p. 585-592, 1999.

MEIJNEN, J. P.; WINDE, J. H.; RUIJSSENAARS, H. J. Engineering Pseudomonas putida S12 for efficient utilization of D-xylose and L-arabinose. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 16, p. 5031-5037, 2008.

MENDONÇA, T. T. **Avaliação do potencial de Burkholderia sacchari produzir o copolímero biodegradável poli (3-hidroxibutirato-co-hidroxihexanoato) P3HB-co-3HHx.** 2009. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MICHELIN RAMOS, M. E. **Caracterização de linhagens bacterianas para a produção de poli-3-hidroxibutirato (P3HB) a partir de hidrolisado do bagaço de cana-de-açúcar.** 2003. 93 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar/>. Acesso em: 20 nov. 2013.

MISRA, S.K.; VALAPPIL, S.P.; ROY, I.; BOCCACCINI, A.R. Polyhydroxyalkanoate (PHA)/Inorganic phase composites for tissue engineering applications. **Biomacromolecules.** v. 7, n. 8, p. 2249-2258, 2006.

MORAWETZ, H. **In polymers**: the origins and growth of a science. New York: John Wiley, 1985.

MUNDO EDUCAÇÃO. Disponível em: <http://www.mundoeducacao.com/quimica/sacarose-ou-acucar-comum.htm>. Acesso em: 01 dez. 2013.

NEVES, A. L. P. **Uso de enzimas na extração de polihidroxialcanoatos sintetizados por *Cupriavidus necator*.** 2009. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2009.

NODA, I.; GREEN, P. R.; SATKOWSKI, M. M.; SCHECHTMAN, L. A. Preparation and properties of anovel class of polyhydroxyalkanoate copolymers. **Biomacromolecules**. v. 6, n. 2, p. 580-586, 2005.

NONATO, R. V.; MANTELATO, P. E.; ROSSEL, C. E. V. Integrated production of biodegradable plastic, sugar and ethanol. **Applied Biotechnology**, v. 57, p. 1-5, 2001.

O'CONNOR, K. E.; ROO, G.; WARD, P. G. Accumulation of Polyhydroxyalaknoate from Styrene and Phenylacetic Acid by Pseudomonas putida CA-3. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 71, p. 2046, 2005.

PASTERNAK, J. New methods of microbiological identification using MALDI-TOF. **Einstein**, v. 10(1), p.118-9, 2012.

PEIXOTO, R. M. **Bioprospecção de microrganismos do gênero *Pseudomonas* produtores de biossurfactantes**. 2008. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

PREUSTING, H. J.; KINGMA, J.; WITHOLT, B. Physiology and polyester formation of Pseudomonas oleovarans in continuous two-liquid-phase cultures. **Enz. Microb. Technol**., v. 13, p. 770-780, 1991.

PUCHALKA, J.; OBERHARDT, M. A.; GODINHO, M.; BIELECKA, A.; REGENHARDT, D.; TIMMIS, K. N.; JASON, A. P.; SANTOS, V. A. P. M.; Genome – Scale Reconstruction and Analysis of the *Pseudomonas putida* KT2440 Metabolic Network Facilitates Applications in Biotechnology. **PLOs Comp. Biol**., v. 4, p. 1-8, 2008.

RAICHER, G. **Análise Econômica da Produção de Polímeros Biodegradáveis no contexto de uma Biorefinaria a partir de cana de açúcar**. 2011. 178 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biotecnologia/USP/ Instituto Butantã/ IPT, São Paulo, 2011.

RAMSAY, B. A. et al. Production of poly-β-hydroxybutyric-co- β-hydroxyvaleric acids. **Appl. Environ. Microbiol**., v. 56, p. 2093-2098, 1990.

RAMSAY, B. A. et al. Continuous production of long-side chain poly-β-hydroxyalkanoates by *Pseudomonas oleovorans*. **Appl. Environ. Microbiol**., v. 57, p. 625-629, 1991.

REHM, B. H. A.; KRÜGER, N.; STEINBÜCHEL, A. A new metabolic link between fatty acid de novo synthesis and polyhydroxyalkanoic acid synthesis. **The Journal of Biologycal Chemistry**, v. 24, p. 44-51, 1998.

REHM, B. H. A. Polyester synthases: natural catalysts for plastics. **Biochem. J**., v. 37, p. 615-633, 2003.

REHM, B. H. A. Biotechnological relevance of pseudomonads. In REHM, B. H. A. (Ed.). ***Pseudomonas:*** model organism, pathogen, cell factory. New Zeland: Wiley-VCH, 2008. Chapter 14, p. 377-395.

RIIS, V.; MAI, W. Gas chromatographic determination of poly-β-hydroxybutyric acid in microbial biomass after hydrochloric acid propanolysis. **J. Chromatogr.**, v. 445, p. 285-289, 1988.

ROSA, D. S.; PENTEADO, D. F.; CALIL, M. R. Propriedades térmicas e biodegradabilidade de PCL e PHB em um pool de fungos. **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 15, p. 75-80, 2000.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning**: a laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SCHLEGEL, H. G.; LAFFERTY, R.; KRAUSS, I. The isolation of mutants not accumulating poly-β-hydroxybutyric acid. **Arch. Mikrobiol**., v. 71, p. 283-294, 1970.

SHARMA, P. K.; FU, J.; CICEK, N.; SPARLING, R.; LEVIN, D. B. Kinetics of medium-chain-length polyhydroxyalkanoate production by a novel isolate of Pseudomonas putida LS46. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 58, n. 8, p. 982-989, 2012.

SILVA, L. F.; GOMEZ, J. G. C.; OLIVEIRA, M. S.; ALTERTHUM, F. Freeze-drying of industrial yeast strains: influence of growth conditions, cooling rates and suspending media on the viability of the recovered cells. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 23, p. 117-122, 1992.

SILVA, S. N. R. L.; FARIAS, C. B. B.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SARUBBO, L. A. Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, p. 174-183, 2010.

SILVA, L. F.; GOMEZ, J. G. C.; ROCHA, R. C. S; TACIRO, M. K.; PRADELLA, J. G. C. Produção biotecnológica de polihidroxialcanoatos para a geração de polímeros biodegradáveis no Brasil**. Quím. Nova**, v. 30, p. 1732-1743, 2007.

SILVA-QUEIROZ, S. R.; SILVA, L. F.; PRADELLA, J. G. C.; PEREIRA, E. M.; GOMEZ, J. G. C. $PHA_{MCL}$ biosynthesis systems in *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* strains show differences on monomer specificities**. Journal of Biotechnology**, v. 143, p. 111-118, 2009.

SINGH, P.; PARMAR, N. Isolation and characterization of two novel polyhydroxybutyrate (PHB)-producing bacteria. **Afr. J. Biotechnol**., v. 10, p. 4907-4919, 2011.

SLATER, S.; HOUMIEL, K. L.; TRAN, M.; MITSKY, T. A.; TAYLOR, N. B.; PADGETTE, S. R.; GRYS, K. J. Multiple β-ketothiolases mediate poly(β-hydroxyalkanoate) copolymer synthesis in Rastonia eutropha**. J. Bacteriol**.; v. 180, n.8, p. 1979-1987, 1998.

STEINBÜCHEL, A. Production od rubber-like polymers by microorganisms**. Curr. Op. in Microbiol.**, v. 6, p. 261-270, 2003.

STEINBUCHEL A.; HEIN, S. Biochemical and molecular basis of microbial synthesis of polyhydroxyalkanoates in micro-organisms. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol**., v. 71, p. 81-123, 2001.

STEINBÜCHEL, A.; VALENTIN, H. E. Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids. **FEMS Microbiol. Lett**., v. 128, p. 219-228, 1995.

STEINBÜCHEL, A. Pohydroxyalkanoic acids. Biomaterials Novel materials from biological sources. **Macmillan Publishers**, Basingstoke, p. 123-213, 1991.

STRELEC, T. **Isolamento de bactérias produtoras de biossurfactantes ramnolipídios e polihidroxialcanoatos e avaliação da relação metabólica no processo de síntese**. 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Tecnológicas, Instituto Butantan, São Paulo, 2006.

SUDESH, K.; ABE, H.; DOI, Y. Synthesis structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. **Progr. Polym**., v. 25, p. 1503-55, 2000.

TAGUCHI, S.; DOI, Y. Evolution of Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production System by "Enzyme Evolution": Successful Case Studies of Directed Evolution. **Macromolecular Bioscience**. v. 4, p. 145-156, 2004.

TAJALLI, K.; ROY, I. Polyhydroxyalkanoates: bioplastics with a green agenda. **Curr. Op. in Microbiol**., v. 13, p. 321-326, 2010.

TORTAJDA, M.; DA SILVA, L. F.; PIETRO, M. A. Second generation functionalized medium chain length Polyhydroxyalkanoates: the gateway to high-value bioplastic applications. **Int. Microbiol.,** v. 16, n. 1, p. 1-15, 2013**.**

VALENTIN, H. E.; LEE, E. Y.; CHOI, C. Y. Identification of 4-hydroxyhezanoic acid as a new constituient of biosynthetic polyhydroxyalkanoic acids from bacterial. **Applied Microbiology Biotechnology,** v. 40, p. 710-716, 1994.

VAN DE WALLE, G. A. M.; BUISMAN, G. J. H.; WEUSTHUIS, R. A. Development of environmentally friendly coatings and paint using medium-chain-length poly(3-hydroxyalkanoates) as the polymer binder. **Int. J. Biol. Macromol**., v. 25, p. 123-128, 1999.

WANG, Y.; AMER, G. A.; SHEPPARD, B. J.; LANGER, R. A tough biodegradable elastomer. **Nat. Biotecnhol.**, v. 20, n. 6, p. 602-606, 2002.

WANG, L. T.; TAI, C. J.; WU, Y. C.; CHEN, Y. B.; LEE, F. L.; LEE, F. L.; WANG, S. L. *Pseudomonas taiwanensis* sp. nov., isolated from soil. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol**., v. 60, p. 2094-2098, 2010.

WITHOLT, B.; KESSLER, B. Perspectives of medium chain length poly (hydroxyalkanoates), a versatile set of bacterial bioplastics. **Current Opinion Biotechnol.,** v. 10, n. 3, p. 279-285, 1999.

WHISTLER, R. H. History and future expectation of starch use. In: WHISTLER, R. H.; BEMILLER, J.; PASCHALL, E. **Starch chemistry and technology**. Academic Express, 1984. p. 1-9.

ZINN, M.; WITHOLT, B.; EGLI, T. Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. **Adv. Drug Del. Rev.,** v. 53, n. 5, p. 5-21, 2001.

ZORTÉA, M. E. B.; SAVOLDI, T. E.; GONGOLESKI, M. S.; HASAN, S. D. M.; FIORESE, M. L. Uso de diferentes fontes renováveis de carbono provenientes de resíduos das indústrias de alimentos e óleo de soja visando à produção de poli (3-hidroxibutirato). **Engevista**, v. 15, n. 2, p. 166-175, 2013.

# APÊNDICES

# APÊNDICE A

Apresentação dos resultados obtidos nos experimentos quantitativos da produção de Polihidroxialcanoatos.

APÊNDICE A - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicose (15 g/L)

(Continua)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Glicose (g/L) INICIAL | Glicose (g/L) FINAL | Glicose (g/L) CONSUM. | Polihidroxialcanoatos – Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | $Y_{P/S}$ | $Y^G_{p/s}$ | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4,50 | 2,38 | 6,37 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,89 | 3,08 | 32,55 | 57,38 | 2,57 | 3,53 | 47,14 | 2,12 | 0,131 | 0,206 | 63,52 |
| **LFM 046** | 4,72 | 2,35 | 6,38 | 16,22 | 0,43 | 15,79 | 0,94 | 3,05 | 32,95 | 56,66 | 2,76 | 3,64 | 50,23 | 2,37 | 0,150 | 0,226 | 66,49 |
| | 4,84 | 2,54 | 6,35 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,88 | 2,96 | 34,01 | 56,35 | 2,40 | 3,40 | 47,53 | 2,30 | 0,142 | 0,209 | 67,98 |
| **Média** | **4,69** | **2,42** | **6,37** | **16,22** | **0,14** | **16,07** | **0,90** | **3,03** | **33,17** | **56,80** | **2,58** | **3,52** | **48,30** | **2,26** | **0,14** | **0,21** | **66,00** |
| **Desvio** | **0,17** | **0,10** | **0,02** | **0,00** | **0,25** | **0,25** | **0,03** | **0,06** | **0,75** | **0,53** | **0,18** | **0,12** | **1,68** | **0,13** | **0,01** | **0,01** | **2,27** |
| | 2,15 | 1,80 | 5,72 | 13,43 | 0,00 | 13,43 | 2,88 | 2,22 | 18,05 | 62,86 | 9,22 | 4,78 | 16,21 | 0,35 | 0,026 | 0,055 | 47,27 |
| **DCL 06** | 2,45 | 2,03 | 5,38 | 13,43 | 0,00 | 13,43 | 3,04 | 2,07 | 17,66 | 63,44 | 8,82 | 4,98 | 17,26 | 0,42 | 0,031 | 0,059 | 53,48 |
| | 2,43 | 2,04 | 5,82 | 13,43 | 0,00 | 13,43 | 1,98 | 2,38 | 19,18 | 62,01 | 9,34 | 5,10 | 16,07 | 0,39 | 0,029 | 0,054 | 53,44 |
| **Média** | **2,34** | **1,95** | **5,64** | **13,43** | **0,00** | **13,43** | **2,63** | **2,22** | **18,30** | **62,77** | **9,13** | **4,95** | **16,51** | **0,39** | **0,03** | **0,06** | **51,40** |
| **Desvio** | **0,17** | **0,13** | **0,23** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,57** | **0,16** | **0,79** | **0,72** | **0,27** | **0,16** | **0,65** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **3,58** |
| | 1,35 | 1,20 | 5,99 | 16,92 | 0,00 | 16,92 | 0,00 | 3,96 | 11,69 | 60,27 | 16,84 | 8,04 | 10,83 | 0,15 | 0,009 | 0,035 | 25,0 |
| **DCL 07** | 1,15 | 1,03 | 6,01 | 13,43 | 0,00 | 13,43 | 1,76 | 2,26 | 14,33 | 63,12 | 13,10 | 5,44 | 10,78 | 0,12 | 0,009 | 0,035 | 26,5 |
| | 1,05 | 0,94 | 6,08 | 16,92 | 0,00 | 16,92 | 1,34 | 4,36 | 10,31 | 70,25 | 9,01 | 4,72 | 10,35 | 0,11 | 0,006 | 0,034 | 19,2 |
| **Média** | **1,18** | **1,06** | **6,03** | **15,75** | **0,00** | **15,75** | **1,03** | **3,53** | **12,11** | **64,55** | **12,98** | **6,07** | **10,65** | **0,13** | **0,01** | **0,03** | **23,54** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,13** | **0,05** | **2,01** | **0,00** | **2,01** | **0,92** | **1,12** | **2,04** | **5,14** | **3,92** | **1,75** | **0,26** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **3,85** |
| | 1,80 | 1,54 | 5,75 | 13,43 | 0,00 | 13,43 | 1,93 | 2,15 | 20,51 | 63,49 | 8,25 | 3,67 | 14,68 | 0,26 | 0,020 | 0,049 | 39,93 |
| **DCL 08** | 1,57 | 1,34 | 5,73 | 13,43 | 0,00 | 13,43 | 1,49 | 2,03 | 17,84 | 65,72 | 8,97 | 3,95 | 14,31 | 0,22 | 0,017 | 0,048 | 34,96 |
| | 1,62 | 1,37 | 5,61 | 13,43 | 0,00 | 13,43 | 1,57 | 2,43 | 20,18 | 63,55 | 8,21 | 4,07 | 15,15 | 0,25 | 0,018 | 0,051 | 35,86 |
| **Média** | **1,66** | **1,42** | **5,70** | **13,43** | **0,00** | **13,43** | **1,66** | **2,20** | **19,51** | **64,25** | **8,48** | **3,90** | **14,71** | **0,24** | **0,02** | **0,05** | **36,92** |
| **Desvio** | **0,12** | **0,10** | **0,08** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,23** | **0,21** | **1,46** | **1,27** | **0,43** | **0,21** | **0,42** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **2,65** |
| | 3,03 | 2,60 | 6,1 | 16,22 | 3,56 | 12,66 | 1,64 | 3,06 | 15,00 | 60,20 | 12,51 | 7,60 | 14,32 | 0,43 | 0,034 | 0,047 | 72,30 |
| **DCL 11** | 2,44 | 2,07 | 6,26 | 16,22 | 2,28 | 13,94 | 1,55 | 3,89 | 15,52 | 61,74 | 10,09 | 7,21 | 15,44 | 0,38 | 0,027 | 0,052 | 52,38 |
| | 2,27 | 1,92 | 6,22 | 16,22 | 2,16 | 14,06 | 1,65 | 2,16 | 17,47 | 63,71 | 10,29 | 4,72 | 15,45 | 0,35 | 0,025 | 0,052 | 48,15 |
| **Média** | **2,58** | **2,19** | **6,19** | **16,22** | **2,67** | **13,55** | **1,61** | **3,04** | **16,00** | **61,88** | **10,96** | **6,51** | **15,07** | **0,39** | **0,03** | **0,05** | **57,61** |
| **Desvio** | **0,40** | **0,36** | **0,08** | **0,00** | **0,78** | **0,78** | **0,06** | **0,87** | **1,30** | **1,76** | **1,34** | **1,56** | **0,65** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **12,90** |
| | 2,05 | 1,70 | 6,11 | 16,22 | 1,68 | 14,54 | 3,06 | 2,16 | 15,28 | 62,79 | 11,29 | 5,42 | 17,12 | 0,35 | 0,024 | 0,058 | 41,55 |
| **DCL 14** | 1,21 | 1,01 | 6,16 | 16,22 | 5,52 | 10,69 | 0,85 | 3,09 | 9,75 | 63,03 | 13,03 | 10,25 | 15,84 | 0,19 | 0,018 | 0,052 | 34,00 |
| | 1,79 | 1,52 | 6,19 | 16,22 | 5,52 | 10,69 | 2,75 | 1,55 | 7,43 | 66,02 | 15,39 | 6,87 | 14,86 | 0,27 | 0,025 | 0,049 | 50,76 |
| **Média** | **1,68** | **1,41** | **6,15** | **16,22** | **4,24** | **11,97** | **2,22** | **2,27** | **10,82** | **63,95** | **13,24** | **7,51** | **15,94** | **0,27** | **0,02** | **0,05** | **42,11** |
| **Desvio** | **0,43** | **0,36** | **0,04** | **0,00** | **2,22** | **2,22** | **1,20** | **0,78** | **4,03** | **1,80** | **2,06** | **2,48** | **1,13** | **0,08** | **0,00** | **0,00** | **8,39** |
| | 2,28 | 1,72 | 5,91 | 16,22 | 1,47 | 14,75 | 1,50 | 2,00 | 19,48 | 64,47 | 7,31 | 5,24 | 24,65 | 0,56 | 0,038 | 0,088 | 43,11 |
| **LFM 634** | 2,57 | 1,95 | 6,01 | 16,22 | 1,36 | 14,85 | 1,53 | 1,70 | 19,09 | 64,64 | 7,84 | 5,20 | 24,01 | 0,62 | 0,041 | 0,086 | 48,44 |
| | 2,92 | 2,19 | 6 | 16,22 | 1,48 | 14,74 | 1,31 | 1,81 | 19,59 | 64,84 | 7,38 | 5,08 | 24,95 | 0,73 | 0,049 | 0,090 | 55,08 |
| **Média** | **2,59** | **1,95** | **5,97** | **16,22** | **1,44** | **14,78** | **1,45** | **1,84** | **19,39** | **64,65** | **7,51** | **5,17** | **24,54** | **0,64** | **0,04** | **0,09** | **48,88** |
| **Desvio** | **0,32** | **0,23** | **0,06** | **0,00** | **0,06** | **0,06** | **0,12** | **0,15** | **0,26** | **0,19** | **0,29** | **0,08** | **0,48** | **0,08** | **0,01** | **0,00** | **6,00** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · $X_{PHA}$ - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicose (15 g/L) (Continuação)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{P/S}$ (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONSUM. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | | | |
| | 3,39 | 2,43 | 6,4 | 16,22 | 1,66 | 14,55 | 1,29 | 2,46 | 17,15 | 64,55 | 7,11 | 7,44 | 28,23 | 0,96 | 0,066 | 0,103 | 63,45 |
| RMP 851-A | 3,49 | 2,49 | 6,4 | 16,22 | 1,71 | 14,51 | 1,04 | 2,45 | 16,88 | 64,62 | 7,50 | 7,51 | 28,77 | 1,00 | 0,069 | 0,106 | 65,46 |
| | 3,28 | 2,32 | 6,41 | 16,22 | 1,91 | 14,31 | 1,07 | 2,49 | 16,72 | 64,52 | 7,69 | 7,50 | 29,13 | 0,96 | 0,067 | 0,107 | 62,22 |
| **Média** | **3,39** | **2,41** | **6,40** | **16,22** | **1,76** | **14,45** | **1,13** | **2,47** | **16,92** | **64,56** | **7,43** | **7,48** | **28,71** | **0,97** | **0,067** | **0,106** | **63,71** |
| **Desvio** | **0,11** | **0,08** | **0,01** | **0,00** | **0,13** | **0,13** | **0,14** | **0,02** | **0,22** | **0,05** | **0,30** | **0,04** | **0,45** | **0,03** | **0,002** | **0,002** | **1,64** |
| | 0,98 | 0,70 | 6,42 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,35 | 1,03 | 13,16 | 71,71 | 7,18 | 5,56 | 28,84 | 0,28 | 0,017 | 0,106 | 16,48 |
| RMP 1256 | 1,07 | 0,82 | 6,43 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,23 | 0,98 | 12,57 | 72,44 | 7,44 | 5,35 | 23,07 | 0,25 | 0,015 | 0,081 | 18,77 |
| | 0,90 | 0,66 | 6,36 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,64 | 1,06 | 13,15 | 71,09 | 7,22 | 5,85 | 26,23 | 0,24 | 0,015 | 0,094 | 15,41 |
| **Média** | **0,98** | **0,73** | **6,40** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,40** | **1,02** | **12,96** | **71,75** | **7,28** | **5,59** | **26,05** | **0,26** | **0,016** | **0,094** | **16,89** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,08** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,21** | **0,04** | **0,34** | **0,68** | **0,14** | **0,25** | **2,89** | **0,02** | **0,002** | **0,012** | **1,72** |
| | 1,66 | 1,25 | 5,48 | 16,22 | 3,45 | 12,77 | 1,27 | 1,96 | 15,28 | 68,91 | 7,14 | 5,44 | 24,84 | 0,41 | 0,032 | 0,089 | 36,37 |
| RMP 1315 | 1,90 | 1,40 | 5,36 | 16,22 | 1,57 | 14,65 | 1,14 | 1,81 | 16,01 | 69,39 | 6,55 | 5,10 | 26,22 | 0,50 | 0,034 | 0,095 | 35,79 |
| | 2,01 | 1,44 | 5,43 | 16,22 | 3,58 | 12,64 | 0,98 | 1,70 | 15,56 | 69,19 | 7,42 | 5,14 | 28,20 | 0,57 | 0,045 | 0,103 | 43,47 |
| **Média** | **1,86** | **1,36** | **5,42** | **16,22** | **2,87** | **13,35** | **1,13** | **1,82** | **15,62** | **69,16** | **7,04** | **5,22** | **26,42** | **0,49** | **0,04** | **0,10** | **38,55** |
| **Desvio** | **0,18** | **0,10** | **0,06** | **0,00** | **1,13** | **1,13** | **0,15** | **0,13** | **0,37** | **0,24** | **0,45** | **0,18** | **1,69** | **0,08** | **0,01** | **0,01** | **4,27** |
| | 1,05 | 0,84 | 6,28 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,42 | 1,39 | 13,93 | 68,29 | 8,10 | 6,89 | 20,10 | 0,21 | 0,013 | 0,069 | 18,80 |
| RMP 1316 | 0,95 | 0,77 | 6,37 | 16,92 | 0,00 | 16,92 | 0,00 | 1,40 | 9,59 | 68,63 | 13,62 | 6,76 | 18,44 | 0,18 | 0,010 | 0,062 | 16,69 |
| | 1,53 | 1,27 | 6,4 | 16,92 | 0,00 | 16,92 | 0,00 | 1,35 | 9,63 | 69,12 | 13,06 | 6,85 | 16,86 | 0,26 | 0,015 | 0,056 | 27,16 |
| **Média** | **1,18** | **0,96** | **6,35** | **16,68** | **0,00** | **16,68** | **0,47** | **1,38** | **11,05** | **68,68** | **11,59** | **6,83** | **18,47** | **0,21** | **0,01** | **0,06** | **20,89** |
| **Desvio** | **0,31** | **0,27** | **0,06** | **0,40** | **0,00** | **0,40** | **0,82** | **0,03** | **2,49** | **0,42** | **3,04** | **0,07** | **1,62** | **0,04** | **0,00** | **0,01** | **5,54** |
| | 0,60 | 0,44 | 6,4 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,29 | 1,96 | 13,67 | 66,95 | 9,58 | 6,54 | 27,09 | 0,16 | 0,010 | 0,098 | 10,23 |
| RMP 1321 | 0,60 | 0,41 | 6,36 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,08 | 1,39 | 12,63 | 72,70 | 7,00 | 5,20 | 30,45 | 0,18 | 0,011 | 0,113 | 9,89 |
| | 0,47 | 0,36 | 6,37 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,66 | 1,20 | 13,04 | 71,08 | 7,25 | 5,77 | 23,11 | 0,11 | 0,007 | 0,081 | 8,14 |
| **Média** | **0,55** | **0,40** | **6,38** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,34** | **1,52** | **13,11** | **70,25** | **7,95** | **5,84** | **26,88** | **0,15** | **0,01** | **0,10** | **9,42** |
| **Desvio** | **0,08** | **0,04** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,29** | **0,40** | **0,52** | **2,96** | **1,42** | **0,67** | **3,68** | **0,04** | **0,00** | **0,02** | **1,12** |
| | 1,31 | 0,99 | 6,37 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,11 | 1,23 | 11,28 | 73,47 | 8,19 | 5,73 | 24,37 | 0,32 | 0,020 | 0,086 | 22,89 |
| RMP 1484 | 0,97 | 0,68 | 6,35 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,72 | 1,06 | 11,44 | 73,50 | 7,35 | 5,93 | 30,39 | 0,29 | 0,018 | 0,112 | 16,19 |
| | 1,25 | 0,94 | 6,4 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,02 | 1,30 | 11,45 | 72,48 | 8,16 | 5,60 | 24,99 | 0,31 | 0,019 | 0,089 | 21,68 |
| **Média** | **1,18** | **0,87** | **6,37** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **0,61** | **1,20** | **11,39** | **73,15** | **7,90** | **5,75** | **26,59** | **0,31** | **0,02** | **0,10** | **20,25** |
| **Desvio** | **0,18** | **0,17** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,46** | **0,12** | **0,10** | **0,58** | **0,48** | **0,17** | **3,31** | **0,01** | **0,00** | **0,01** | **3,57** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · $X_{PHA}$ - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular. ND - não determinado.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicose (15 g/L) (Continuação)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{P/S}$ (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONSUM. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | | | |
| | 2,28 | 1,97 | 6,26 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,92 | 1,98 | 15,94 | 67,34 | 9,31 | 3,52 | 13,46 | 0,31 | 0,019 | 0,045 | 42,44 |
| RMP 1486 | 2,25 | 1,92 | 6,06 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,53 | 1,52 | 16,30 | 68,08 | 8,75 | 3,83 | 14,46 | 0,33 | 0,020 | 0,048 | 41,66 |
| | 2,56 | 2,18 | 5,96 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,51 | 1,99 | 14,21 | 69,86 | 8,48 | 3,95 | 14,71 | 0,38 | 0,023 | 0,049 | 47,36 |
| **Média** | **2,36** | **2,03** | **6,09** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,65** | **1,83** | **15,48** | **68,43** | **8,84** | **3,77** | **14,21** | **0,34** | **0,02** | **0,05** | **43,82** |
| **Desvio** | **0,17** | **0,14** | **0,15** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,23** | **0,27** | **1,11** | **1,30** | **0,42** | **0,22** | **0,66** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **3,09** |
| | 3,50 | 3,12 | 5,68 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 3,71 | 2,07 | 12,34 | 54,18 | 14,52 | 13,19 | 10,75 | 0,38 | 0,023 | 0,035 | 67,08 |
| SCU 99 | 3,69 | 3,25 | 5,76 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 3,67 | 2,53 | 12,09 | 54,17 | 13,87 | 13,67 | 11,90 | 0,44 | 0,027 | 0,039 | 70,06 |
| | 3,97 | 3,51 | 5,51 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 3,89 | 1,62 | 12,31 | 54,51 | 14,50 | 13,18 | 11,59 | 0,46 | 0,028 | 0,037 | 75,60 |
| **Média** | **3,72** | **3,29** | **5,65** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **3,75** | **2,07** | **12,25** | **54,29** | **14,29** | **13,35** | **11,42** | **0,42** | **0,03** | **0,04** | **70,91** |
| **Desvio** | **0,23** | **0,19** | **0,13** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,12** | **0,46** | **0,14** | **0,19** | **0,37** | **0,28** | **0,59** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **4,33** |
| | 3,45 | 3,07 | 4,93 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,75 | 3,44 | 21,94 | 50,98 | 11,64 | 10,26 | 11,01 | 0,38 | 0,023 | 0,036 | 65,35 |
| SCU 101 | 3,26 | 2,87 | 4,87 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,35 | 3,15 | 25,35 | 50,51 | 9,81 | 9,83 | 11,82 | 0,38 | 0,024 | 0,039 | 61,14 |
| | 3,33 | 2,94 | 4,93 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,35 | 3,25 | 23,85 | 51,30 | 10,46 | 9,80 | 11,48 | 0,38 | 0,024 | 0,038 | 62,69 |
| **Média** | **3,34** | **2,96** | **4,91** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,48** | **3,28** | **23,71** | **50,93** | **10,64** | **9,96** | **11,44** | **0,38** | **0,02** | **0,04** | **63,06** |
| **Desvio** | **0,10** | **0,10** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,23** | **0,15** | **1,71** | **0,40** | **0,93** | **0,26** | **0,40** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **2,13** |
| | 2,86 | 2,49 | 4,87 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 3,25 | 1,66 | 14,55 | 56,52 | 12,53 | 11,48 | 12,63 | 0,36 | 0,022 | 0,041 | 53,88 |
| SCU 164 | 3,05 | 2,59 | 4,96 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,73 | 2,35 | 16,44 | 54,70 | 12,26 | 11,51 | 14,80 | 0,45 | 0,028 | 0,049 | 56,57 |
| | 3,41 | 2,91 | 4,95 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 3,18 | 2,66 | 17,23 | 54,07 | 12,08 | 10,79 | 14,55 | 0,50 | 0,031 | 0,048 | 63,25 |
| **Média** | **3,10** | **2,67** | **4,93** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **3,05** | **2,22** | **16,07** | **55,10** | **12,29** | **11,26** | **14,00** | **0,44** | **0,03** | **0,05** | **57,90** |
| **Desvio** | **0,28** | **0,22** | **0,05** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,29** | **0,51** | **1,38** | **1,27** | **0,23** | **0,41** | **1,19** | **0,07** | **0,00** | **0,00** | **4,82** |
| | 1,80 | 1,75 | 3,34 | 16,22 | 6,63 | 9,59 | 5,42 | 0,00 | 5,25 | 50,17 | 25,77 | 13,38 | 2,79 | 0,05 | 0,005 | 0,008 | 62,17 |
| SCU 304 | 1,50 | 1,46 | 3,35 | 16,22 | 6,30 | 9,91 | 5,08 | 0,00 | 5,49 | 50,90 | 24,01 | 14,52 | 2,39 | 0,04 | 0,004 | 0,007 | 50,23 |
| | 1,97 | 1,92 | 3,36 | 16,22 | 6,61 | 9,61 | 4,77 | 0,00 | 5,49 | 51,44 | 24,39 | 13,91 | 2,65 | 0,05 | 0,005 | 0,008 | 68,00 |
| **Média** | **1,76** | **1,71** | **3,35** | **16,22** | **6,51** | **9,70** | **5,09** | **0,00** | **5,41** | **50,84** | **24,72** | **13,94** | **2,61** | **0,05** | **0,00** | **0,01** | **60,13** |
| **Desvio** | **0,24** | **0,23** | **0,01** | **0,00** | **0,18** | **0,18** | **0,32** | **0,00** | **0,14** | **0,63** | **0,93** | **0,57** | **0,20** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **9,06** |
| | 1,34 | 1,05 | 5,58 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,00 | 10,70 | 12,63 | 57,54 | 10,67 | 8,46 | 21,67 | 0,29 | 0,018 | 0,076 | 23,46 |
| TSM 33 | 1,56 | 0,99 | 5,99 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,34 | 1,41 | 15,72 | 67,65 | 7,00 | 6,88 | 36,65 | 0,57 | 0,035 | 0,143 | 24,69 |
| | 1,60 | 1,02 | 5,9 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,46 | 1,24 | 14,93 | 68,19 | 7,44 | 6,74 | 36,02 | 0,58 | 0,036 | 0,140 | 25,47 |
| **Média** | **1,50** | **1,02** | **5,82** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **0,93** | **4,45** | **14,43** | **64,46** | **8,37** | **7,36** | **31,45** | **0,48** | **0,03** | **0,12** | **24,54** |
| **Desvio** | **0,14** | **0,03** | **0,22** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,81** | **5,42** | **1,61** | **6,00** | **2,00** | **0,95** | **8,47** | **0,16** | **0,01** | **0,04** | **1,01** |
| | 2,43 | 2,20 | 5,05 | 16,22 | 4,00 | 12,22 | 2,14 | 0,65 | 8,57 | 75,43 | 8,76 | 4,45 | 9,27 | 0,23 | 0,018 | 0,030 | 62,17 |
| TSM 36 | 2,26 | 2,02 | 5,1 | 16,22 | 3,97 | 12,25 | 2,29 | 0,68 | 9,18 | 75,00 | 8,55 | 4,29 | 10,59 | 0,24 | 0,019 | 0,034 | 57,00 |
| | 2,40 | 2,14 | 5,01 | 16,22 | 3,70 | 12,52 | 2,37 | 1,39 | 10,00 | 73,35 | 8,19 | 4,69 | 10,59 | 0,25 | 0,020 | 0,034 | 59,13 |
| **Média** | **2,36** | **2,12** | **5,05** | **16,22** | **3,89** | **12,33** | **2,27** | **0,91** | **9,25** | **74,59** | **8,50** | **4,48** | **10,15** | **0,24** | **0,02** | **0,03** | **59,44** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,10** | **0,05** | **0,00** | **0,16** | **0,16** | **0,12** | **0,42** | **0,72** | **1,10** | **0,29** | **0,20** | **0,76** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **2,60** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · $X_{PHA}$ - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicose (15 g/L) (Continuação)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Glicose (g/L) INICIAL | Glicose (g/L) FINAL | Glicose (g/L) CONSUM. | Polihidroxialcanoatos – Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | $Y_{P/S}$ (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1,13 | 0,87 | 6,36 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,45 | 1,31 | 13,78 | 66,67 | 9,76 | 7,03 | 22,40 | 0,25 | 0,016 | 0,078 | 19,86 |
| **TSM 45** | 1,14 | 0,77 | 6,16 | 16,92 | 0,00 | 16,92 | 0,65 | 2,33 | 15,18 | 63,86 | 9,67 | 8,31 | 32,63 | 0,37 | 0,022 | 0,123 | 17,92 |
| | 0,98 | 0,70 | 6,2 | 16,92 | 0,00 | 16,92 | 0,73 | 2,56 | 16,52 | 68,38 | 3,09 | 8,73 | 28,11 | 0,27 | 0,016 | 0,103 | 15,73 |
| **Média** | **1,08** | **0,78** | **6,24** | **16,68** | **0,00** | **16,68** | **0,94** | **2,07** | **15,16** | **66,31** | **7,51** | **8,02** | **27,71** | **0,30** | **0,02** | **0,10** | **17,84** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,09** | **0,11** | **0,40** | **0,00** | **0,40** | **0,44** | **0,66** | **1,37** | **2,28** | **3,83** | **0,88** | **5,13** | **0,06** | **0,00** | **0,02** | **2,07** |
| | 1,90 | 1,67 | 6,19 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,92 | 1,95 | 16,11 | 64,57 | 11,55 | 3,89 | 11,87 | 0,23 | 0,014 | 0,039 | 35,81 |
| **TSM 49** | 1,71 | 1,45 | 6,16 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,21 | 2,21 | 15,56 | 56,84 | 11,21 | 11,97 | 15,44 | 0,26 | 0,016 | 0,051 | 31,69 |
| | 1,50 | 1,28 | 6,18 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,42 | 2,30 | 16,20 | 59,51 | 11,81 | 7,76 | 14,39 | 0,22 | 0,013 | 0,048 | 27,86 |
| **Média** | **1,70** | **1,47** | **6,18** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **2,18** | **2,15** | **15,96** | **60,31** | **11,52** | **7,87** | **13,90** | **0,24** | **0,01** | **0,05** | **31,79** |
| **Desvio** | **0,20** | **0,20** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,25** | **0,18** | **0,35** | **3,93** | **0,30** | **4,04** | **1,83** | **0,03** | **0,00** | **0,01** | **3,98** |
| | 1,17 | 1,00 | 6,31 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,51 | 1,78 | 11,11 | 68,63 | 10,45 | 6,52 | 14,43 | 0,17 | 0,010 | 0,048 | 21,84 |
| **TSM 50** | 1,09 | 0,96 | 6,37 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,86 | 1,92 | 10,83 | 68,99 | 10,64 | 5,75 | 12,14 | 0,13 | 0,008 | 0,040 | 20,62 |
| | 1,47 | 1,29 | 6,37 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,00 | 2,78 | 13,29 | 64,83 | 10,73 | 6,37 | 12,38 | 0,18 | 0,011 | 0,041 | 27,68 |
| **Média** | **1,24** | **1,08** | **6,35** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,79** | **2,16** | **11,74** | **67,49** | **10,61** | **6,21** | **12,98** | **0,16** | **0,01** | **0,04** | **23,38** |
| **Desvio** | **0,20** | **0,18** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,25** | **0,54** | **1,35** | **2,31** | **0,14** | **0,41** | **1,26** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **3,77** |
| | 2,03 | 1,65 | 6,14 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,23 | 2,40 | 17,59 | 63,06 | 9,35 | 5,37 | 18,60 | 0,38 | 0,023 | 0,064 | 36,45 |
| **TSM 55** | 1,87 | 1,32 | 6,06 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,92 | 1,52 | 13,91 | 65,69 | 9,27 | 7,68 | 29,26 | 0,55 | 0,034 | 0,108 | 31,38 |
| | 1,79 | 1,55 | 6,08 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,39 | 2,50 | 18,30 | 61,85 | 9,88 | 5,09 | 13,58 | 0,24 | 0,015 | 0,045 | 33,22 |
| **Média** | **1,90** | **1,51** | **6,09** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **2,18** | **2,14** | **16,60** | **63,53** | **9,50** | **6,05** | **20,48** | **0,39** | **0,02** | **0,07** | **33,69** |
| **Desvio** | **0,12** | **0,17** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,24** | **0,54** | **2,35** | **1,97** | **0,33** | **1,42** | **8,00** | **0,15** | **0,01** | **0,03** | **2,57** |
| | 1,00 | 0,82 | 6,1 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,94 | 1,99 | 13,19 | 68,06 | 9,72 | 5,09 | 17,54 | 0,17 | 0,011 | 0,060 | 18,09 |
| **TSM 56** | 1,03 | 0,86 | 6,13 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,68 | 1,70 | 11,66 | 69,87 | 9,87 | 5,21 | 16,09 | 0,16 | 0,010 | 0,054 | 18,87 |
| | 1,28 | 1,09 | 6,12 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,98 | 2,06 | 14,49 | 66,37 | 9,98 | 5,12 | 14,51 | 0,18 | 0,011 | 0,048 | 23,64 |
| **Média** | **1,10** | **0,92** | **6,12** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,87** | **1,92** | **13,11** | **68,10** | **9,86** | **5,14** | **16,05** | **0,17** | **0,01** | **0,05** | **20,20** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,15** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,16** | **0,19** | **1,42** | **1,75** | **0,13** | **0,06** | **1,52** | **0,01** | **0,00** | **0,01** | **3,00** |
| | 2,95 | 2,57 | 6,31 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,15 | 2,35 | 15,05 | 64,32 | 10,92 | 5,21 | 12,84 | 0,38 | 0,023 | 0,042 | 55,27 |
| **TSM 60** | 2,74 | 2,30 | 6,29 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,28 | 2,49 | 17,35 | 62,06 | 10,42 | 5,40 | 16,21 | 0,44 | 0,027 | 0,055 | 50,06 |
| | 2,96 | 2,52 | 6,28 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,80 | 2,23 | 14,67 | 65,91 | 10,34 | 5,05 | 14,95 | 0,44 | 0,027 | 0,050 | 54,73 |
| **Média** | **2,88** | **2,46** | **6,29** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **2,08** | **2,36** | **15,69** | **64,10** | **10,56** | **5,22** | **14,66** | **0,42** | **0,03** | **0,05** | **53,35** |
| **Desvio** | **0,12** | **0,15** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,25** | **0,13** | **1,45** | **1,93** | **0,32** | **0,17** | **1,70** | **0,04** | **0,00** | **0,01** | **2,86** |
| | 1,55 | 1,18 | 6,16 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,51 | 1,72 | 12,77 | 72,30 | 7,54 | 4,68 | 23,69 | 0,37 | 0,023 | 0,084 | 27,07 |
| **TSM 80** | 1,86 | 1,39 | 6,14 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,81 | 1,83 | 13,35 | 66,91 | 7,42 | 4,46 | 25,42 | 0,47 | 0,029 | 0,093 | 31,30 |
| | 1,46 | 1,08 | 6,21 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,18 | 1,90 | 15,82 | 63,04 | 7,07 | 4,39 | 26,06 | 0,38 | 0,023 | 0,097 | 24,07 |
| **Média** | **1,62** | **1,22** | **6,17** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,50** | **1,94** | 14,69 | **64,94** | **7,34** | **4,51** | **25,06** | **0,41** | **0,03** | **0,09** | **27,48** |
| **Desvio** | **0,21** | **0,16** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,31** | **0,09** | **1,62** | **4,65** | **0,24** | **0,15** | **1,23** | **0,06** | **0,00** | **0,01** | **3,64** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · $X_{PHA}$ - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicose (15 g/L) (Continuação)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Glicose (g/L) INICIAL | Glicose (g/L) FINAL | Glicose (g/L) CONSUM. | Polihidroxialcanoatos – Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | $Y_{P/S}$ (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2,51 | 2,11 | 5,12 | 16,92 | 2,32 | 14,60 | 0,00 | 1,77 | 15,31 | 63,90 | 11,49 | 7,53 | 16,12 | 0,40 | 0,028 | 0,054 | 51,59 |
| **TSM 89** | 2,42 | 2,02 | 5,2 | 16,22 | 0,85 | 15,36 | 3,66 | 1,90 | 15,82 | 63,04 | 11,00 | 5,25 | 16,50 | 0,40 | 0,026 | 0,056 | 46,57 |
| | 2,55 | 2,15 | 5,08 | 16,22 | 0,63 | 15,59 | 3,51 | 1,94 | 14,69 | 64,94 | 10,56 | 4,93 | 15,49 | 0,39 | 0,025 | 0,052 | 48,71 |
| **Média** | **2,49** | **2,09** | **5,13** | **16,45** | **1,27** | **15,18** | **2,39** | **1,87** | **15,27** | **63,96** | **11,02** | **5,90** | **16,03** | **0,40** | **0,03** | **0,05** | **48,96** |
| **Desvio** | **0,07** | **0,07** | **0,06** | **0,40** | **0,92** | **0,52** | **2,07** | **0,09** | **0,57** | **0,95** | **0,47** | **1,42** | **0,51** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **2,52** |
| | 2,91 | 2,41 | 6,24 | 16,22 | 1,36 | 14,86 | 0,92 | 2,51 | 14,27 | 65,85 | 10,32 | 6,14 | 17,18 | 0,50 | 0,034 | 0,058 | 57,95 |
| **TSM 94** | 3,12 | 2,51 | 6,26 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,08 | 1,18 | 10,66 | 73,90 | 8,93 | 5,25 | 19,42 | 0,61 | 0,037 | 0,066 | 56,46 |
| | 2,61 | 2,15 | 6,22 | 16,22 | 1,20 | 15,02 | 0,09 | 2,47 | 14,57 | 66,84 | 10,12 | 6,00 | 17,58 | 0,46 | 0,031 | 0,059 | 51,47 |
| **Média** | **2,88** | **2,36** | **6,24** | **16,22** | **0,00** | **15,36** | **0,36** | **2,05** | **13,17** | **68,86** | **9,79** | **5,80** | **18,06** | **0,52** | **0,03** | **0,06** | **55,29** |
| **Desvio** | **0,26** | **0,19** | **0,02** | **0,00** | **0,74** | **0,74** | **0,48** | **0,76** | **2,18** | **4,39** | **0,75** | **0,48** | **1,20** | **0,08** | **0,00** | **0,00** | **3,39** |
| | 1,65 | 1,32 | 6,22 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,14 | 1,29 | 11,67 | 74,80 | 8,14 | 3,96 | 20,17 | 0,33 | 0,021 | 0,069 | 29,61 |
| **TSM 95** | 1,45 | 1,12 | 6,28 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,12 | 1,34 | 13,02 | 73,20 | 7,97 | 4,35 | 22,79 | 0,33 | 0,020 | 0,080 | 25,44 |
| | 1,55 | 1,22 | 6,23 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,14 | 1,56 | 12,97 | 71,99 | 8,79 | 4,55 | 20,92 | 0,32 | 0,020 | 0,072 | 27,57 |
| **Média** | **1,55** | **1,22** | **6,24** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **0,14** | **1,40** | **12,55** | **73,33** | **8,30** | **4,28** | **21,29** | **0,33** | **0,02** | **0,07** | **27,54** |
| **Desvio** | **0,10** | **0,10** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,01** | **0,14** | **0,77** | **1,41** | **0,43** | **0,30** | **1,35** | **0,00** | **0,00** | **0,01** | **2,09** |
| | 2,39 | 2,03 | 5,97 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,40 | 1,42 | 15,49 | 68,85 | 9,02 | 3,82 | 15,23 | 0,36 | 0,022 | 0,051 | 44,08 |
| **TSM 97** | 2,59 | 2,20 | 6,3 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,12 | 2,14 | 15,42 | 67,77 | 8,64 | 3,90 | 15,10 | 0,39 | 0,024 | 0,051 | 47,65 |
| | 2,29 | 1,97 | 6,26 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,73 | 1,92 | 14,66 | 68,74 | 8,97 | 3,98 | 13,93 | 0,32 | 0,020 | 0,046 | 42,57 |
| **Média** | **2,42** | **2,07** | **6,18** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,75** | **1,83** | **15,19** | **68,45** | **8,87** | **3,90** | **14,75** | **0,36** | **0,02** | **0,05** | **44,77** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,12** | **0,18** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,36** | **0,37** | **0,46** | **0,59** | **7,58** | **0,08** | **0,71** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **2,61** |
| | 1,14 | 0,84 | 6,22 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,09 | 1,30 | 11,90 | 74,17 | 7,58 | 4,96 | 25,96 | 0,29 | 0,018 | 0,093 | 19,57 |
| **TSM 98** | 1,23 | 0,94 | 6,15 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,30 | 1,01 | 11,20 | 74,82 | 7,49 | 4,18 | 23,67 | 0,29 | 0,018 | 0,084 | 21,40 |
| | 1,06 | 0,78 | 6,2 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,30 | 0,99 | 11,19 | 74,80 | 7,54 | 4,19 | 26,32 | 0,28 | 0,017 | 0,095 | 18,17 |
| **Média** | **1,14** | **0,85** | **6,19** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **0,90** | **1,10** | **11,43** | **74,59** | **7,54** | **4,45** | **25,31** | **0,29** | **0,02** | **0,09** | **19,71** |
| **Desvio** | **0,08** | **0,08** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,70** | **0,18** | **0,41** | **0,37** | **0,04** | **0,45** | **1,44** | **0,01** | **0,00** | **0,01** | **1,62** |
| | 1,30 | 1,00 | 6,2 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,79 | 1,28 | 13,96 | 72,61 | 6,58 | 4,78 | 22,59 | 0,29 | 0,018 | 0,079 | 22,76 |
| **TSM 101** | 1,58 | 1,13 | 5,91 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,86 | 1,37 | 13,13 | 72,81 | 6,81 | 5,02 | 28,43 | 0,45 | 0,028 | 0,104 | 26,56 |
| | 1,44 | 1,00 | 6,21 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,85 | 1,37 | 13,14 | 72,87 | 6,89 | 4,87 | 30,00 | 0,43 | 0,027 | 0,111 | 23,92 |
| **Média** | **1,44** | **1,04** | **6,11** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **0,83** | **1,34** | **13,41** | **72,76** | **6,76** | **4,89** | **27,00** | **0,39** | **0,02** | **0,10** | **24,42** |
| **Desvio** | **0,14** | **0,07** | **0,17** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,04** | **0,06** | **0,48** | **0,14** | **0,16** | **0,12** | **3,90** | **0,09** | **0,01** | **0,02** | **1,95** |
| | 2,15 | 1,83 | 6,16 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 3,84 | 2,82 | 19,71 | 60,15 | 9,31 | 4,17 | 14,80 | 0,32 | 0,020 | 0,050 | 39,22 |
| **TSM 102** | 2,17 | 1,83 | 5,97 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 3,06 | 2,11 | 16,70 | 65,35 | 8,75 | 4,04 | 15,47 | 0,34 | 0,021 | 0,052 | 39,70 |
| | 1,96 | 1,69 | 5,19 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,46 | 1,85 | 14,17 | 68,02 | 9,63 | 3,88 | 13,45 | 0,26 | 0,016 | 0,045 | 36,42 |
| **Média** | **2,09** | **1,78** | **5,77** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **3,12** | **2,26** | **16,86** | **64,51** | **9,23** | **4,03** | **14,57** | **0,31** | **0,02** | **0,05** | **38,44** |
| **Desvio** | **0,12** | **0,08** | **0,51** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,69** | **0,50** | **2,77** | **4,00** | **0,45** | **0,15** | **1,03** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **1,77** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · $X_{PHA}$ - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicose (15 g/L) (Conclusão)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{P/S}$ (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONSUM. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | | | |
| | 1,73 | 1,39 | 6,18 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,44 | 1,50 | 14,84 | 70,57 | 7,69 | 4,05 | 19,36 | 0,33 | 0,021 | 0,067 | 30,93 |
| TSM 103 | 1,52 | 1,18 | 6,17 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,28 | 1,36 | 14,14 | 73,05 | 6,59 | 3,65 | 22,45 | 0,34 | 0,021 | 0,079 | 26,67 |
| | 1,47 | 1,15 | 6,14 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,76 | 1,77 | 13,91 | 71,55 | 7,03 | 4,06 | 21,91 | 0,32 | 0,020 | 0,077 | 25,86 |
| **Média** | **1,57** | **1,24** | **6,16** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,49** | **1,54** | **14,30** | **71,72** | **7,10** | **3,92** | **21,24** | **0,33** | **0,02** | **0,07** | **27,82** |
| **Desvio** | **0,14** | **0,13** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,24** | **0,21** | **0,49** | **1,25** | **0,55** | **0,24** | **1,65** | **0,01** | **0,00** | **0,01** | **2,72** |
| | 2,07 | 1,68 | 6,23 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,45 | 2,45 | 16,06 | 65,70 | 8,66 | 5,69 | 18,96 | 0,39 | 0,024 | 0,065 | 37,19 |
| TSM 130 | 2,24 | 1,77 | 5,87 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,62 | 1,41 | 15,19 | 67,77 | 8,79 | 5,21 | 20,79 | 0,46 | 0,029 | 0,072 | 39,72 |
| | 2,36 | 1,85 | 5,60 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,11 | 1,91 | 15,17 | 68,51 | 8,10 | 5,20 | 21,63 | 0,51 | 0,031 | 0,075 | 41,70 |
| **Média** | **2,22** | **1,77** | **5,90** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,39** | **1,92** | **15,48** | **67,33** | **8,52** | **5,36** | **20,46** | **0,46** | **0,03** | **0,07** | **39,54** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,09** | **0,32** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,26** | **0,52** | **0,50** | **1,46** | **0,37** | **0,28** | **1,37** | **0,06** | **0,00** | **0,01** | **2,26** |
| | 1,63 | 1,23 | 6,24 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,90 | 1,16 | 11,99 | 72,93 | 7,97 | 5,05 | 24,70 | 0,40 | 0,025 | 0,088 | 28,31 |
| TSM 131 | 1,76 | 1,39 | 6,18 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,31 | 1,71 | 13,84 | 71,30 | 7,48 | 4,37 | 21,02 | 0,37 | 0,023 | 0,073 | 31,13 |
| | 1,86 | 1,45 | 6,18 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,36 | 1,78 | 14,49 | 70,36 | 7,65 | 4,36 | 21,93 | 0,41 | 0,025 | 0,077 | 32,67 |
| **Média** | **1,75** | **1,35** | **6,20** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **1,19** | **1,55** | **13,44** | **71,53** | **7,70** | **4,59** | **22,55** | **0,39** | **0,02** | **0,08** | **30,70** |
| **Desvio** | **0,11** | **0,11** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,25** | **0,34** | **1,30** | **1,30** | **0,25** | **0,40** | **1,92** | **0,02** | **0,00** | **0,01** | **2,21** |
| | 1,46 | 1,20 | 6,31 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,92 | 1,61 | 15,66 | 65,71 | 9,03 | 6,06 | 17,58 | 0,26 | 0,016 | 0,060 | 26,42 |
| TSM 132 | 1,50 | 1,21 | 6,31 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 1,98 | 2,09 | 16,24 | 64,73 | 8,81 | 6,16 | 19,05 | 0,29 | 0,018 | 0,065 | 26,93 |
| | 1,51 | 1,29 | 6,34 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 2,16 | 2,18 | 16,48 | 62,84 | 10,36 | 5,98 | 14,54 | 0,22 | 0,013 | 0,048 | 27,86 |
| **Média** | **1,49** | **1,23** | **6,32** | **16,22** | **0,00** | **16,22** | **2,02** | **1,96** | **16,13** | **64,43** | **9,40** | **6,06** | **17,05** | **0,25** | **0,02** | **0,06** | **27,07** |
| **Desvio** | **0,03** | **0,05** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,13** | **0,30** | **0,42** | **1,46** | **0,84** | **0,09** | **2,30** | **0,03** | **0,00** | **0,01** | **0,73** |
| | 1,61 | 1,22 | 6,26 | 16,22 | 5,20 | 11,02 | 1,80 | 2,10 | 23,79 | 51,58 | 15,57 | 5,16 | 24,13 | 0,39 | 0,035 | 0,086 | 40,89 |
| TSM 133 | 0,95 | 0,66 | 6,26 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 7,99 | 2,23 | 13,08 | 59,81 | 9,44 | 7,45 | 30,07 | 0,28 | 0,018 | 0,113 | 15,47 |
| | 0,93 | 0,63 | 6,26 | 16,22 | 0,00 | 16,22 | 0,82 | 2,40 | 14,77 | 63,77 | 9,91 | 8,33 | 31,41 | 0,29 | 0,018 | 0,117 | 15,31 |
| **Média** | **1,16** | **0,84** | **6,26** | **16,22** | **1,73** | **14,48** | **3,54** | **2,24** | **17,21** | **58,39** | **11,64** | **6,98** | **28,54** | **0,32** | **0,02** | **0,11** | **23,89** |
| **Desvio** | **0,39** | **0,33** | **0,00** | **0,00** | **3,00** | **3,00** | **3,89** | **0,15** | **5,76** | **6,22** | **3,41** | **1,64** | **3,87** | **0,06** | **0,01** | **0,02** | **14,72** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · $X_{PHA}$ - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Frutose (15 g/L)

(Continua)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Frutose (g/L) INICIAL | FINAL | CONS. | Polihidroxialcanoatos Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | YP/S (g/g) | $Y^G$p/s | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4,04 | 2,18 | 6,36 | 18,09 | 6,60 | 11,49 | 0,43 | 3,03 | 31,00 | 59,73 | 2,38 | 3,43 | 46,11 | 1,86 | 0,162 | 0,202 | 80,29 |
| **LFM 046** | 4,09 | 2,59 | 6,41 | 18,09 | 6,59 | 11,50 | 0,57 | 3,15 | 30,87 | 59,54 | 2,48 | 3,40 | 36,76 | 1,51 | 0,131 | 0,165 | 79,24 |
| | 4,13 | 2,41 | 6,4 | 18,09 | 7,55 | 10,53 | 0,49 | 3,09 | 31,15 | 59,58 | 2,28 | 3,41 | 41,61 | 1,72 | 0,163 | 0,184 | 88,43 |
| **Média** | **4,09** | **2,39** | **6,39** | **18,09** | **6,91** | **11,18** | **0,49** | **3,09** | **31,01** | **59,62** | **2,38** | **3,41** | **41,50** | **1,70** | **0,15** | **0,18** | **82,65** |
| **Desvio** | **0,05** | **0,21** | **0,03** | **0,00** | **0,56** | **0,56** | **0,07** | **0,06** | **0,14** | **0,10** | **0,10** | **0,02** | **4,68** | **0,18** | **0,02** | **0,02** | **5,03** |
| | 2,96 | 2,40 | 6,26 | 18,09 | 3,10 | 14,99 | 1,02 | 2,52 | 17,62 | 67,98 | 6,90 | 3,96 | 18,65 | 0,55 | 0,037 | 0,088 | 41,72 |
| **DCL 06** | 2,61 | 2,02 | 6,31 | 18,09 | 3,07 | 15,02 | 0,99 | 2,36 | 17,50 | 68,38 | 6,84 | 3,93 | 22,32 | 0,58 | 0,039 | 0,104 | 37,12 |
| | 3,02 | 2,41 | 6,29 | 18,09 | 2,80 | 15,29 | 1,14 | 2,43 | 18,02 | 66,25 | 7,66 | 4,49 | 20,11 | 0,61 | 0,040 | 0,095 | 42,00 |
| **Média** | **2,86** | **2,28** | **6,29** | **18,09** | **2,99** | **15,10** | **1,05** | **2,44** | **17,71** | **67,54** | **7,14** | **4,13** | **20,36** | **0,58** | **0,04** | **0,10** | **40,28** |
| **Desvio** | **0,22** | **0,22** | **0,03** | **0,00** | **0,16** | **0,16** | **0,08** | **0,08** | **0,27** | **1,13** | **0,46** | **0,32** | **1,85** | **0,03** | **0,00** | **0,01** | **2,74** |
| | 2,22 | 1,87 | 6,33 | 18,09 | 9,10 | 8,99 | 0,10 | 2,43 | 17,34 | 66,93 | 8,04 | 5,17 | 15,65 | 0,35 | 0,039 | 0,075 | 51,84 |
| **DCL 07** | 1,81 | 1,55 | 6,32 | 18,09 | 8,45 | 9,64 | 0,10 | 2,43 | 17,20 | 66,51 | 8,47 | 5,30 | 14,51 | 0,26 | 0,027 | 0,069 | 39,29 |
| | 2,25 | 1,93 | 6,37 | 20,13 | 8,37 | 11,76 | 0,00 | 3,27 | 15,25 | 60,21 | 16,05 | 5,23 | 14,41 | 0,32 | 0,028 | 0,069 | 40,03 |
| **Média** | **2,09** | **1,78** | **6,34** | **18,77** | **8,64** | **10,13** | **0,07** | **2,71** | **16,59** | **64,55** | **10,85** | **5,23** | **14,86** | **0,31** | **0,03** | **0,07** | **43,72** |
| **Desvio** | **0,25** | **0,20** | **0,03** | **1,18** | **0,40** | **1,45** | **0,06** | **0,49** | **1,17** | **3,76** | **4,51** | **0,06** | **0,69** | **0,04** | **0,01** | **0,00** | **7,04** |
| | 2,79 | 2,09 | 6,29 | 18,09 | 3,47 | 14,62 | 0,01 | 2,14 | 17,17 | 70,06 | 6,77 | 3,84 | 25,19 | 0,70 | 0,048 | 0,091 | 52,66 |
| **DCL 08** | 2,42 | 1,86 | 6,26 | 18,09 | 3,85 | 14,24 | 0,11 | 2,30 | 17,62 | 69,19 | 6,88 | 3,93 | 23,29 | 0,56 | 0,040 | 0,083 | 47,44 |
| | 2,41 | 1,88 | 6,3 | 18,09 | 3,59 | 14,50 | 0,93 | 2,45 | 17,55 | 68,09 | 7,02 | 3,95 | 22,02 | 0,53 | 0,037 | 0,078 | 46,69 |
| **Média** | **2,54** | **1,94** | **6,28** | **18,09** | **3,63** | **14,45** | **0,35** | **2,30** | **17,45** | **69,11** | **6,89** | **3,91** | **23,50** | **0,60** | **0,04** | **0,08** | **48,93** |
| **Desvio** | **0,22** | **0,13** | **0,02** | **0,00** | **0,20** | **0,20** | **0,51** | **0,16** | **0,24** | **0,99** | **0,13** | **0,06** | **1,59** | **0,09** | **0,01** | **0,01** | **3,25** |
| | 2,69 | 2,08 | 6,27 | 18,09 | 5,39 | 12,70 | 0,01 | 2,15 | 18,32 | 68,93 | 6,69 | 3,91 | 22,71 | 0,61 | 0,048 | 0,081 | 59,33 |
| **DCL 11** | 2,55 | 1,96 | 6,29 | 18,09 | 5,27 | 12,81 | 0,93 | 1,92 | 17,70 | 68,92 | 6,68 | 3,84 | 23,11 | 0,59 | 0,046 | 0,083 | 55,50 |
| | 2,59 | 2,04 | 6,29 | 18,09 | 4,89 | 13,20 | 0,89 | 2,05 | 18,26 | 68,24 | 6,76 | 3,80 | 21,57 | 0,56 | 0,042 | 0,077 | 55,42 |
| **Média** | **2,61** | **2,03** | **6,28** | **18,09** | **5,18** | **12,90** | **0,61** | **2,04** | **18,10** | **68,70** | **6,71** | **3,85** | **22,46** | **0,59** | **0,05** | **0,08** | **56,75** |
| **Desvio** | **0,07** | **0,06** | **0,01** | **0,00** | **0,26** | **0,26** | **0,52** | **0,11** | **0,34** | **0,40** | **0,04** | **0,05** | **0,80** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **2,23** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.

3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.

%MSC - percentual da massa seca celular.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Frutose (15 g/L) (Continuação)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Frutose (g/L) INICIAL | FINAL | CONS. | Polihidroxialcanoatos Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | YP/S (g/g) | $Y^G$p/s | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2,51 | 2,00 | 6,3 | 18,09 | 7,94 | 10,15 | 1,10 | 1,92 | 15,09 | 69,00 | 7,76 | 5,13 | 20,39 | 0,51 | 0,050 | 0,071 | 70,62 |
| **DCL 14** | 2,52 | 2,08 | 6,31 | 18,09 | 7,58 | 10,51 | 0,00 | 1,89 | 15,59 | 69,19 | 8,07 | 5,27 | 17,24 | 0,43 | 0,041 | 0,059 | 70,05 |
| | 2,63 | 2,17 | 6,31 | 18,09 | 8,12 | 9,97 | 3,21 | 1,85 | 15,24 | 67,07 | 7,67 | 4,96 | 17,53 | 0,46 | 0,046 | 0,061 | 76,36 |
| **Média** | **2,55** | **2,08** | **6,31** | **18,09** | **7,88** | **10,21** | **1,43** | **1,89** | **15,31** | **68,42** | **7,83** | **5,12** | **18,39** | **0,47** | **0,05** | **0,06** | **72,35** |
| **Desvio** | **0,07** | **0,09** | **0,01** | **0,00** | **0,27** | **0,27** | **1,63** | **0,04** | **0,25** | **1,17** | **0,21** | **0,15** | **1,74** | **0,04** | **0,00** | **0,01** | **3,49** |
| | 2,20 | 1,90 | 6,32 | 18,09 | 7,73 | 10,36 | 0,00 | 2,40 | 20,59 | 63,68 | 8,17 | 5,16 | 13,46 | 0,30 | 0,029 | 0,045 | 63,45 |
| **LFM 634** | **2,13** | 1,85 | 6,34 | 18,09 | 8,30 | 9,79 | 0,00 | 2,91 | 19,96 | 63,97 | 7,92 | 5,24 | 13,31 | 0,28 | 0,029 | 0,045 | 65,05 |
| | 2,15 | 1,79 | 6,33 | 18,09 | 8,61 | 9,48 | 0,00 | 2,92 | 20,64 | 63,12 | 8,07 | 5,25 | 16,99 | 0,37 | 0,039 | 0,058 | 66,27 |
| **Média** | **2,16** | **1,85** | **6,33** | **18,09** | **8,21** | **9,87** | **0,00** | **2,74** | **20,40** | **63,59** | **8,06** | **5,21** | **14,59** | **0,32** | **0,03** | **0,05** | **64,92** |
| **Desvio** | **0,04** | **0,06** | **0,01** | **0,00** | **0,45** | **0,45** | **0,00** | **0,30** | **0,38** | **0,43** | **0,13** | **0,05** | **2,08** | **0,04** | **0,01** | **0,01** | **1,42** |
| | 5,10 | 3,65 | 6,34 | 18,09 | 0,41 | 17,68 | 1,18 | 2,59 | 18,23 | 63,82 | 6,48 | 7,69 | 28,37 | 1,45 | 0,082 | 0,106 | 77,53 |
| **RMP 851-A** | 5,00 | 3,27 | 6,45 | 18,09 | 0,00 | 18,09 | 1,16 | 2,65 | 18,52 | 63,82 | 6,32 | 7,52 | 34,65 | 1,73 | 0,096 | 0,135 | 70,84 |
| | 4,96 | 3,51 | 6,33 | 18,09 | 0,52 | 17,57 | 1,18 | 2,68 | 18,39 | 63,67 | 6,37 | 7,72 | 29,21 | 1,45 | 0,082 | 0,109 | 75,38 |
| **Média** | **5,02** | **3,48** | **6,37** | **18,09** | **0,31** | **17,78** | **1,17** | **2,64** | **18,38** | **63,77** | **6,39** | **7,65** | **30,74** | **1,54** | **0,09** | **0,12** | **74,58** |
| **Desvio** | **0,07** | **0,19** | **0,07** | **0,00** | **0,27** | **0,27** | **0,01** | **0,04** | **0,15** | **0,09** | **0,09** | **0,11** | **3,41** | **0,17** | **0,01** | **0,02** | **3,42** |
| | 1,78 | 1,61 | 6,37 | 18,09 | 8,09 | 10,00 | 0,00 | 0,23 | 16,30 | 66,90 | 11,24 | 5,33 | 9,54 | 0,17 | 0,017 | 0,031 | 55,07 |
| **RMP 1256** | 2,26 | 2,02 | 6,36 | 18,09 | 8,39 | 9,70 | 0,02 | 2,29 | 16,42 | 66,20 | 10,12 | 4,96 | 10,44 | 0,24 | 0,024 | 0,034 | 71,34 |
| | 1,96 | 1,77 | 6,35 | 18,09 | 9,73 | 8,36 | 0,00 | 2,04 | 16,11 | 66,30 | 10,56 | 4,99 | 9,93 | 0,19 | 0,023 | 0,032 | 72,15 |
| **Média** | **2,00** | **1,80** | **6,36** | **18,09** | **8,73** | **9,35** | **0,01** | **1,52** | **16,28** | **66,47** | **10,64** | **5,09** | **9,97** | **0,20** | **0,02** | **0,03** | **66,19** |
| **Desvio** | **0,24** | **0,21** | **0,01** | **0,00** | **0,88** | **0,88** | **0,01** | **1,12** | **0,15** | **0,38** | **0,56** | **0,21** | **0,45** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **9,63** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular. ND - não determinado.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Frutose (15 g/L) (Continuação)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Frutose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | YP/S (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | | | |
| | 1,44 | 1,24 | 6,42 | 18,09 | 8,00 | 10,09 | 0,12 | 2,24 | 18,36 | 67,30 | 7,43 | 4,56 | 14,05 | 0,20 | 0,020 | 0,047 | 42,50 |
| RMP 1315 | 1,54 | 1,32 | 6,4 | 18,09 | 8,35 | 9,74 | 0,08 | 2,09 | 17,98 | 67,31 | 8,14 | 4,40 | 14,27 | 0,22 | 0,023 | 0,048 | 47,06 |
| | 1,74 | 1,53 | 6,36 | 18,09 | 8,46 | 9,63 | 0,14 | 1,93 | 16,10 | 66,95 | 9,81 | 5,07 | 11,71 | 0,20 | 0,021 | 0,039 | 54,74 |
| **Média** | **1,57** | **1,36** | **6,39** | **18,09** | **8,27** | **9,82** | **0,11** | **2,09** | **17,48** | **67,18** | **8,46** | **4,68** | **13,34** | **0,21** | **0,02** | **0,04** | **48,10** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,15** | **0,03** | **0,00** | **0,24** | **0,24** | **0,03** | **0,15** | **1,21** | **0,20** | **1,22** | **0,35** | **1,42** | **0,01** | **0,00** | **0,01** | **6,19** |
| | 1,49 | 1,36 | 6,47 | 20,21 | 12,27 | 7,94 | 0,00 | 5,28 | 13,94 | 68,80 | 5,02 | 6,95 | 8,93 | 0,13 | 0,017 | 0,029 | 57,92 |
| RMP 1316 | 1,87 | 1,71 | 6,46 | 20,21 | 8,36 | 11,85 | 0,00 | 5,06 | 14,83 | 60,94 | 12,39 | 6,79 | 8,08 | 0,15 | 0,013 | 0,026 | 48,95 |
| | 2,06 | 1,87 | 6,32 | 18,09 | 9,64 | 8,45 | 0,00 | 2,15 | 16,12 | 66,52 | 10,33 | 4,88 | 8,77 | 0,18 | 0,021 | 0,028 | 75,38 |
| **Média** | **1,81** | **1,65** | **6,42** | **19,50** | **10,09** | **9,41** | **0,00** | **4,16** | **14,96** | **65,42** | **9,25** | **6,21** | **8,59** | **0,15** | **0,02** | **0,03** | **60,75** |
| **Desvio** | **0,28** | **0,26** | **0,08** | **1,22** | **1,99** | **2,13** | **0,00** | **1,75** | **1,10** | **4,04** | **3,80** | **1,15** | **0,45** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **13,44** |
| | 2,13 | 1,92 | 6,31 | 18,09 | 10,29 | 7,80 | 0,00 | 0,22 | 15,12 | 63,65 | 14,37 | 6,63 | 9,47 | 0,20 | 0,026 | 0,030 | 84,75 |
| RMP 1321 | 2,00 | 1,83 | 6,29 | 18,09 | 9,15 | 8,94 | 0,00 | 2,07 | 15,46 | 66,39 | 11,01 | 5,08 | 8,27 | 0,17 | 0,019 | 0,027 | 69,59 |
| | 2,03 | 1,84 | 6,31 | 18,09 | 10,42 | 7,67 | 0,00 | 1,76 | 15,97 | 66,58 | 10,72 | 4,98 | 9,05 | 0,18 | 0,024 | 0,029 | 81,72 |
| **Média** | **2,05** | **1,87** | **6,30** | **18,09** | **9,95** | **8,14** | **0,00** | **1,35** | **15,51** | **65,54** | **12,03** | **5,56** | **8,93** | **0,18** | **0,02** | **0,03** | **78,69** |
| **Desvio** | **0,07** | **0,05** | **0,01** | **0,00** | **0,70** | **0,70** | **0,00** | **0,99** | **0,42** | **1,64** | **2,03** | **0,93** | **0,61** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **8,02** |
| | 2,58 | 2,17 | 6,33 | 18,09 | 8,43 | 9,66 | 0,00 | 0,10 | 7,65 | 78,49 | 9,00 | 4,76 | 16,06 | 0,41 | 0,043 | 0,054 | 79,54 |
| RMP 1484 | 2,00 | 1,74 | 6,3 | 18,09 | 8,30 | 9,79 | 0,00 | 0,14 | 11,27 | 74,51 | 9,50 | 4,58 | 13,07 | 0,26 | 0,027 | 0,043 | 61,93 |
| | 1,77 | 1,49 | 6,33 | 18,09 | 8,73 | 9,36 | 0,10 | 0,88 | 8,41 | 76,83 | 9,02 | 4,76 | 15,83 | 0,28 | 0,030 | 0,053 | 56,28 |
| **Média** | **2,12** | **1,80** | **6,32** | **18,09** | **8,49** | **9,60** | **0,03** | **0,37** | **9,11** | **76,61** | **9,17** | **4,70** | **14,99** | **0,32** | **0,03** | **0,05** | **65,92** |
| **Desvio** | **0,42** | **0,34** | **0,02** | **0,00** | **0,22** | **0,22** | **0,06** | **0,44** | **1,91** | **2,00** | **0,28** | **0,10** | **1,66** | **0,08** | **0,01** | **0,01** | **12,13** |
| | 2,99 | 2,63 | 6,34 | 18,09 | 8,87 | 9,22 | 0,00 | 1,11 | 10,03 | 73,67 | 10,20 | 4,98 | 12,15 | 0,36 | 0,039 | 0,040 | 99,10 |
| RMP 1486 | 2,44 | 2,10 | 6,3 | 18,09 | 9,00 | 9,09 | 0,00 | 1,19 | 9,41 | 74,70 | 9,69 | 5,00 | 13,84 | 0,34 | 0,037 | 0,046 | 80,78 |
| | 2,30 | 1,99 | 6,35 | 18,09 | 9,27 | 8,82 | 0,00 | 1,62 | 10,03 | 73,59 | 10,02 | 4,74 | 13,27 | 0,31 | 0,035 | 0,044 | 78,84 |
| **Média** | **2,58** | **2,24** | **6,33** | **18,09** | **9,05** | **9,04** | **0,00** | **1,31** | **9,82** | **73,99** | **9,97** | **4,91** | **13,09** | **0,34** | **0,04** | **0,04** | **86,24** |
| **Desvio** | **0,37** | **0,34** | **0,03** | **0,00** | **0,20** | **0,20** | **0,00** | **0,27** | **0,36** | **0,62** | **0,26** | **0,15** | **0,86** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **11,18** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

(Continuação)

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Frutose (15 g/L)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Frutose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | YP/S (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | | | |
| | 4,35 | 3,47 | 6,28 | 18,09 | 0,44 | 17,65 | 3,18 | 1,47 | 0,00 | 61,38 | 15,12 | 15,74 | 20,44 | 0,89 | 0,050 | 0,071 | 71,17 |
| **SCU 99** | 5,04 | 4,11 | 6,17 | 18,09 | 0,00 | 18,08 | 3,12 | 1,29 | 8,67 | 57,90 | 13,98 | 15,04 | 18,53 | 0,94 | 0,052 | 0,063 | 81,96 |
| | 4,66 | 3,89 | 6,05 | 18,09 | 0,11 | 17,98 | 3,38 | 1,15 | 7,02 | 57,64 | 15,91 | 14,90 | 16,58 | 0,77 | 0,043 | 0,056 | 77,33 |
| **Média** | **4,69** | **3,82** | **6,17** | **18,09** | **0,18** | **17,90** | **3,23** | **1,30** | **5,23** | **58,97** | **15,00** | **15,23** | **18,52** | **0,87** | **0,05** | **0,06** | **76,82** |
| **Desvio** | **0,35** | **0,33** | **0,12** | **0,00** | **0,23** | **0,23** | **0,13** | **0,16** | **4,61** | **2,09** | **0,97** | **0,45** | **1,93** | **0,08** | **0,00** | **0,01** | **5,41** |
| | 4,65 | 3,50 | 6,41 | 18,09 | 3,52 | 14,57 | 1,56 | 0,95 | 8,15 | 63,44 | 12,73 | 13,17 | 24,72 | 1,15 | 0,079 | 0,088 | 90,05 |
| **SCU 101** | 3,84 | 3,01 | 6,4 | 18,09 | 4,35 | 13,74 | 1,71 | 0,94 | 7,83 | 63,18 | 13,22 | 13,11 | 21,61 | 0,83 | 0,060 | 0,075 | 80,49 |
| | 5,17 | 3,77 | 6,41 | 18,09 | 2,84 | 15,25 | 1,40 | 1,05 | 8,73 | 62,46 | 12,59 | 13,77 | 27,10 | 1,40 | 0,092 | 0,098 | 94,04 |
| **Média** | **4,55** | **3,43** | **6,41** | **18,09** | **3,57** | **14,52** | **1,56** | **0,98** | **8,24** | **63,03** | **12,85** | **13,35** | **24,48** | **1,13** | **0,08** | **0,09** | **88,19** |
| **Desvio** | **0,67** | **0,39** | **0,01** | **0,00** | **0,76** | **0,76** | **0,16** | **0,06** | **0,46** | **0,51** | **0,33** | **0,36** | **2,76** | **0,29** | **0,02** | **0,01** | **6,96** |
| | 4,10 | 2,71 | 6,19 | 18,09 | 2,41 | 15,68 | 2,33 | 0,94 | 8,40 | 63,46 | 11,23 | 13,63 | 33,92 | 1,39 | 0,089 | 0,129 | 68,65 |
| **SCU 164** | 5,29 | 3,81 | 6,45 | 18,09 | 1,59 | 16,50 | 2,50 | 1,14 | 8,43 | 63,06 | 11,40 | 13,46 | 28,04 | 1,48 | 0,090 | 0,102 | 87,95 |
| | 4,23 | 2,99 | 6,45 | 18,09 | 2,67 | 15,42 | 2,38 | 1,14 | 8,38 | 63,45 | 11,22 | 13,43 | 29,33 | 1,24 | 0,081 | 0,108 | 74,65 |
| **Média** | **4,54** | **3,17** | **6,36** | **18,09** | **2,22** | **15,86** | **2,40** | **1,08** | **8,40** | **63,32** | **11,29** | **13,51** | **30,43** | **1,37** | **0,09** | **0,11** | **77,08** |
| **Desvio** | **0,65** | **0,57** | **0,15** | **0,00** | **0,56** | **0,56** | **0,09** | **0,12** | **0,03** | **0,23** | **0,10** | **0,11** | **3,09** | **0,12** | **0,01** | **0,01** | **9,88** |
| | 1,95 | 1,77 | 6,36 | 18,09 | 7,85 | 10,24 | 0,00 | 2,47 | 17,31 | 63,59 | 11,51 | 5,13 | 9,27 | 0,18 | 0,018 | 0,030 | 58,81 |
| **TSM 33** | 1,99 | 1,81 | 6,37 | 18,09 | 8,33 | 9,76 | 1,60 | 2,56 | 16,83 | 62,83 | 11,04 | 5,13 | 8,87 | 0,18 | 0,018 | 0,029 | 62,85 |
| | 2,06 | 1,88 | 6,38 | 18,09 | 7,97 | 10,12 | 1,62 | 2,48 | 16,79 | 62,87 | 11,21 | 5,04 | 8,58 | 0,18 | 0,017 | 0,028 | 62,87 |
| **Média** | **2,00** | **1,82** | **6,37** | **18,09** | **8,05** | **10,04** | **1,07** | **2,50** | **16,97** | **63,10** | **11,25** | **5,10** | **8,91** | **0,18** | **0,02** | **0,03** | **61,51** |
| **Desvio** | **0,06** | **0,06** | **0,01** | **0,00** | **0,25** | **0,25** | **0,93** | **0,05** | **0,29** | **0,42** | **0,23** | **0,05** | **0,35** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **2,34** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

(Continuação)

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Frutose (15 g/L)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Frutose (g/L) INICIAL | FINAL | CONS. | Polihidroxialcanoatos Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | YP/S (g/g) | $Y^G p/s$ | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1,95 | 1,72 | 6,27 | 18,09 | 7,24 | 10,85 | 1,65 | 1,93 | 15,16 | 64,26 | 9,22 | 4,62 | 11,52 | 0,22 | 0,021 | 0,039 | 53,57 |
| **TSM 36** | 2,31 | 2,03 | 6,28 | 18,09 | 7,87 | 10,22 | 0,00 | 0,00 | 12,76 | 68,78 | 14,20 | 4,26 | 11,99 | 0,28 | 0,027 | 0,039 | 69,04 |
| | 2,50 | 2,19 | 6,26 | 18,09 | 8,00 | 10,09 | 1,73 | 2,00 | 15,83 | 66,71 | 8,97 | 4,77 | 12,23 | 0,31 | 0,030 | 0,041 | 74,66 |
| **Média** | **2,25** | **1,98** | **6,27** | **18,09** | **7,70** | **10,39** | **1,13** | **1,31** | **14,59** | **66,58** | **10,79** | **4,55** | **11,91** | **0,27** | **0,03** | **0,04** | **65,75** |
| **Desvio** | **0,28** | **0,24** | **0,01** | **0,00** | **0,41** | **0,41** | **0,98** | **1,13** | **1,61** | **2,26** | **2,95** | **0,26** | **0,36** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **10,92** |
| | 2,26 | 2,01 | 6,28 | 18,09 | 9,94 | 8,15 | 0,00 | 0,22 | 16,12 | 68,37 | 9,76 | 5,54 | 11,10 | 0,25 | 0,031 | 0,036 | 84,88 |
| **TSM 45** | 2,15 | 1,90 | 6,33 | 18,09 | 9,89 | 8,20 | 0,00 | 1,92 | 15,91 | 66,84 | 9,75 | 5,57 | 11,79 | 0,25 | 0,031 | 0,039 | 79,85 |
| | 2,29 | 2,04 | 6,31 | 18,09 | 10,77 | 7,32 | 0,00 | 2,05 | 15,96 | 66,78 | 9,63 | 5,58 | 11,32 | 0,26 | 0,036 | 0,037 | 95,62 |
| **Média** | **2,24** | **1,98** | **6,31** | **18,09** | **10,20** | **7,89** | **0,00** | **1,40** | **16,00** | **67,33** | **9,71** | **5,56** | **11,40** | **0,25** | **0,03** | **0,04** | **86,78** |
| **Desvio** | **0,07** | **0,07** | **0,03** | **0,00** | **0,50** | **0,50** | **0,00** | **1,02** | **0,11** | **0,90** | **0,07** | **0,02** | **0,35** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **8,05** |
| | 2,18 | 2,00 | 6,33 | 18,09 | 10,21 | 7,88 | 0,00 | 2,10 | 15,95 | 65,03 | 11,07 | 5,85 | 8,61 | 0,19 | 0,024 | 0,028 | 86,17 |
| **TSM 49** | 1,88 | 1,73 | 6,35 | 18,09 | 9,63 | 8,46 | 0,00 | 2,02 | 15,61 | 64,30 | 12,12 | 5,95 | 7,85 | 0,15 | 0,017 | 0,025 | 69,47 |
| | 1,99 | 1,83 | 6,35 | 18,09 | 10,15 | 7,94 | 0,00 | 2,02 | 15,35 | 64,66 | 12,04 | 5,93 | 7,81 | 0,16 | 0,020 | 0,025 | 78,38 |
| **Média** | **2,02** | **1,85** | **6,34** | **18,09** | **10,00** | **8,09** | **0,00** | **2,05** | **15,64** | **64,67** | **11,75** | **5,91** | **8,09** | **0,16** | **0,02** | **0,03** | **78,01** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,13** | **0,01** | **0,00** | **0,32** | **0,32** | **0,00** | **0,05** | **0,30** | **0,37** | **0,59** | **0,06** | **0,45** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **8,35** |
| | 1,94 | 1,71 | 6,24 | 18,09 | 10,05 | 8,04 | 0,00 | 2,47 | 17,15 | 65,96 | 9,34 | 5,08 | 11,98 | 0,23 | 0,029 | 0,040 | 73,05 |
| **TSM 50** | 2,06 | 1,80 | 6,25 | 18,09 | 9,33 | 8,76 | 0,00 | 2,46 | 17,40 | 65,52 | 9,42 | 5,21 | 12,23 | 0,25 | 0,029 | 0,040 | 70,91 |
| | 2,14 | 1,88 | 6,25 | 18,09 | 9,23 | 8,86 | 0,00 | 2,53 | 16,97 | 65,60 | 9,63 | 5,28 | 11,83 | 0,25 | 0,029 | 0,039 | 73,10 |
| **Média** | **2,04** | **1,80** | **6,25** | **18,09** | **9,54** | **8,55** | **0,00** | **2,48** | **17,17** | **65,69** | **9,46** | **5,19** | **12,01** | **0,25** | **0,03** | **0,04** | **72,35** |
| **Desvio** | **0,10** | **0,09** | **0,01** | **0,00** | **0,45** | **0,45** | **0,00** | **0,04** | **0,22** | **0,24** | **0,15** | **0,10** | **0,20** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **1,25** |
| | 1,89 | 1,77 | 6,38 | 18,09 | 11,03 | 7,06 | 0,19 | 0,24 | 15,49 | 62,52 | 14,93 | 6,63 | 6,41 | 0,12 | 0,017 | 0,020 | 84,94 |
| **TSM 55** | 1,81 | 1,69 | 6,37 | 18,09 | 10,74 | 7,35 | 0,18 | 0,23 | 15,08 | 61,41 | 17,08 | 6,02 | 6,55 | 0,12 | 0,016 | 0,021 | 78,10 |
| | 1,88 | 1,75 | 6,38 | 18,09 | 10,90 | 7,19 | 0,17 | 0,21 | 16,18 | 64,05 | 12,94 | 6,45 | 6,85 | 0,13 | 0,018 | 0,022 | 82,53 |
| **Média** | **1,86** | **1,74** | **6,38** | **18,09** | **10,89** | **7,20** | **0,18** | **0,23** | **15,59** | **62,66** | **14,98** | **6,36** | **6,60** | **0,12** | **0,02** | **0,02** | **81,86** |
| **Desvio** | **0,04** | **0,04** | **0,01** | **0,00** | **0,15** | **0,15** | **0,01** | **0,02** | **0,56** | **1,33** | **2,07** | **0,31** | **0,23** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **3,46** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Frutose (15 g/L) (Continuação)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Frutose (g/L) INICIAL | FINAL | CONS. | Polihidroxialcanoatos Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | YP/S (g/g) | $Y^G$p/s | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2,28 | 1,90 | 6,34 | 18,09 | 7,61 | 10,48 | 0,96 | 1,92 | 16,43 | 65,39 | 7,47 | 4,51 | 16,76 | 0,38 | 0,036 | 0,058 | 62,65 |
| **TSM 56** | 2,16 | 1,78 | 6,34 | 18,09 | 7,79 | 10,30 | 0,00 | 2,04 | 16,88 | 67,04 | 7,32 | 4,47 | 17,37 | 0,38 | 0,036 | 0,060 | 60,53 |
| | 2,08 | 1,74 | 6,33 | 18,09 | 7,43 | 10,66 | 0,99 | 1,96 | 17,02 | 65,76 | 7,57 | 4,43 | 16,15 | 0,34 | 0,032 | 0,056 | 56,65 |
| **Média** | **2,17** | **1,81** | **6,34** | **18,09** | **7,61** | **10,48** | **0,65** | **1,97** | **16,78** | **66,06** | **7,45** | **4,47** | **16,76** | **0,36** | **0,03** | **0,06** | **59,95** |
| **Desvio** | **0,10** | **0,08** | **0,01** | **0,00** | **0,18** | **0,18** | **0,56** | **0,06** | **0,31** | **0,86** | **0,13** | **0,04** | **0,61** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **3,04** |
| | 2,19 | 1,82 | 6,32 | 18,09 | 8,08 | 10,01 | 1,07 | 2,06 | 17,26 | 67,50 | 7,79 | 4,32 | 16,68 | 0,37 | 0,037 | 0,057 | 63,90 |
| **TSM 60** | 2,28 | 1,91 | 6,37 | 18,09 | 6,53 | 11,56 | 0,11 | 1,93 | 17,22 | 68,31 | 7,92 | 4,50 | 16,06 | 0,37 | 0,032 | 0,055 | 57,89 |
| | 2,59 | 2,17 | 6,33 | 18,09 | 7,03 | 11,06 | 0,00 | 3,06 | 18,40 | 63,24 | 9,48 | 5,81 | 16,25 | 0,42 | 0,038 | 0,055 | 68,82 |
| **Média** | **2,35** | **1,97** | **6,34** | **18,09** | **7,21** | **10,88** | **0,39** | **2,35** | **17,63** | **66,35** | **8,40** | **4,88** | **16,33** | **0,38** | **0,04** | **0,06** | **63,54** |
| **Desvio** | **0,21** | **0,18** | **0,03** | **0,00** | **0,79** | **0,79** | **0,59** | **0,62** | **0,67** | **2,72** | **0,94** | **0,81** | **0,32** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **5,47** |
| | 3,20 | 2,88 | 6,4 | 18,09 | 4,00 | 14,09 | 1,94 | 4,02 | 11,86 | 62,00 | 8,26 | 11,92 | 10,00 | 0,32 | 0,023 | 0,033 | 69,80 |
| **TSM 89** | 3,88 | 3,38 | 6,37 | 18,09 | 3,77 | 14,32 | 0,16 | 2,03 | 17,23 | 67,61 | 8,63 | 4,34 | 12,83 | 0,50 | 0,035 | 0,043 | 81,51 |
| | 3,37 | 2,96 | 6,38 | 18,09 | 3,41 | 14,67 | 0,16 | 2,01 | 16,91 | 67,52 | 8,97 | 4,44 | 11,90 | 0,40 | 0,027 | 0,039 | 69,43 |
| **Média** | **3,48** | **3,08** | **6,38** | **18,09** | **3,73** | **14,36** | **0,75** | **2,69** | **15,33** | **65,71** | **8,62** | **6,90** | **11,58** | **0,41** | **0,03** | **0,04** | **73,58** |
| **Desvio** | **0,35** | **0,27** | **0,02** | **0,00** | **0,30** | **0,29** | **1,03** | **1,15** | **3,01** | **3,21** | **0,35** | **4,35** | **1,44** | **0,09** | **0,01** | **0,01** | **6,87** |
| | 2,49 | 2,17 | 6,39 | 18,09 | 8,87 | 9,22 | 2,02 | 1,60 | 12,84 | 69,80 | 8,86 | 4,88 | 12,90 | 0,32 | 0,035 | 0,043 | 81,18 |
| **TSM 94** | 2,54 | 2,16 | 6,35 | 18,09 | 6,42 | 11,67 | 1,61 | 2,04 | 17,53 | 66,83 | 7,83 | 4,16 | 15,07 | 0,38 | 0,033 | 0,051 | 64,29 |
| | 2,36 | 2,02 | 6,36 | 18,09 | 6,35 | 11,73 | 1,48 | 2,14 | 17,72 | 66,58 | 7,91 | 4,17 | 14,54 | 0,34 | 0,029 | 0,049 | 59,51 |
| **Média** | **2,46** | **2,12** | **6,37** | **18,09** | **7,21** | **10,88** | **1,70** | **1,93** | **16,03** | **67,74** | **8,20** | **4,40** | **14,17** | **0,35** | **0,03** | **0,05** | **68,33** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,09** | **0,02** | **0,00** | **1,43** | **1,43** | **0,28** | **0,28** | **2,77** | **1,79** | **0,57** | **0,41** | **1,13** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **11,39** |
| | 1,83 | 1,71 | 6,37 | 18,09 | 10,09 | 8,00 | 0,24 | 3,46 | 15,36 | 60,28 | 14,05 | 6,61 | 6,23 | 0,11 | 0,014 | 0,020 | 72,00 |
| **TSM 132** | 1,91 | 1,81 | 6,38 | 18,09 | 11,13 | 6,96 | 0,00 | 2,78 | 14,24 | 59,71 | 16,17 | 7,11 | 5,13 | 0,10 | 0,014 | 0,016 | 87,59 |
| | 1,90 | 1,81 | 6,37 | 18,09 | 10,09 | 8,00 | 0,00 | 0,37 | 14,01 | 60,70 | 18,59 | 6,33 | 4,45 | 0,08 | 0,011 | 0,014 | 76,32 |
| **Média** | **1,88** | **1,78** | **6,37** | **18,09** | **10,43** | **7,65** | **0,08** | **2,20** | **14,54** | **60,23** | **16,27** | **6,68** | **5,27** | **0,10** | **0,01** | **0,02** | **78,63** |
| **Desvio** | **0,05** | **0,06** | **0,01** | **0,00** | **0,60** | **0,60** | **0,14** | **1,62** | **0,72** | **0,50** | **2,27** | **0,40** | **0,90** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **8,05** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular. ND - não determinado.

(Conclusão)

Produção polihidroxialcanoatos a partir de Frutose (15 g/L)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Frutose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | | | |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | | | |
| | 1,95 | 1,80 | 6,36 | 18,09 | 9,46 | 8,63 | 0,22 | 0,23 | 15,24 | 66,35 | 12,44 | 5,52 | 7,54 | 0,15 | 0,017 | 0,024 | 70,94 |
| **TSM 133** | 1,99 | 1,81 | 6,37 | 18,09 | 9,58 | 8,51 | 0,00 | 2,00 | 15,85 | 65,40 | 11,00 | 5,75 | 9,24 | 0,18 | 0,022 | 0,030 | 72,35 |
| | 2,06 | 1,89 | 6,38 | 18,09 | 9,21 | 8,88 | 0,00 | 0,24 | 16,15 | 66,52 | 11,32 | 5,77 | 8,49 | 0,17 | 0,020 | 0,027 | 72,36 |
| **Média** | **2,00** | **1,83** | **6,37** | **18,09** | **9,42** | **8,67** | **0,07** | **0,83** | **15,74** | **66,09** | **11,59** | **5,68** | **8,42** | **0,17** | **0,02** | **0,03** | **71,88** |
| **Desvio** | **0,06** | **0,05** | **0,01** | **0,00** | **0,19** | **0,19** | **0,13** | **1,02** | **0,46** | **0,61** | **0,75** | **0,14** | **0,85** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,82** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual ·
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Continua)

| Isolados | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Glicerol (g/L) INICIAL | Glicerol (g/L) FINAL | Glicerol (g/L) CONS. | Polihidroxialcanoatos – Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0,35 | 0,35 | 7,04 | 22,20 | 16,95 | 5,25 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 51,61 | 48,39 | 0,00 | 0,90 | 0,00 | 13,56 |
| **LFM 046** | 0,89 | 0,89 | 7 | 22,20 | 19,18 | 3,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 47,50 | 52,50 | 0,00 | 0,65 | 0,01 | 59,40 |
| | 0,62 | 0,62 | 7 | 22,20 | 17,98 | 4,22 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 49,69 | 50,31 | 0,00 | 0,67 | 0,00 | 29,46 |
| **Média** | **0,62** | **0,62** | **7,01** | **22,20** | **18,03** | **4,16** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **49,60** | **50,40** | **0,00** | **0,74** | **0,00** | **34,14** |
| **Desvio** | **0,27** | **0,27** | **0,02** | **0,00** | **1,12** | **1,12** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **2,06** | **2,06** | **0,00** | **0,14** | **0,00** | **23,28** |
| | 2,55 | 1,96 | 6,35 | 22,20 | 6,80 | 15,39 | 0,95 | 2,25 | 22,55 | 67,00 | 4,63 | 2,62 | 23,29 | 0,59 | 35,52 |
| **DCL 06** | 2,11 | 1,67 | 6,39 | 22,20 | 6,41 | 15,79 | 1,01 | 2,23 | 22,10 | 67,26 | 4,66 | 2,74 | 20,79 | 0,44 | 28,45 |
| | 2,57 | 1,93 | 6,34 | 22,20 | 5,28 | 16,91 | 1,27 | 2,24 | 21,50 | 67,61 | 4,66 | 2,73 | 25,20 | 0,65 | 32,83 |
| **Média** | **2,41** | **1,85** | **6,36** | **22,20** | **6,17** | **16,03** | **1,07** | **2,24** | **22,05** | **67,29** | **4,65** | **2,70** | **23,09** | **0,56** | **32,27** |
| **Desvio** | **0,26** | **0,16** | **0,03** | **0,00** | **0,79** | **0,79** | **0,17** | **0,01** | **0,53** | **0,31** | **0,02** | **0,07** | **2,22** | **0,11** | **3,57** |
| | 1,02 | 0,85 | 6,01 | 22,20 | 7,79 | 14,41 | 1,23 | 2,44 | 20,49 | 66,51 | 5,71 | 3,62 | 16,87 | 0,17 | 14,90 |
| **DCL 07** | 1,15 | 0,94 | 6,01 | 22,20 | 7,49 | 14,71 | 3,11 | 2,57 | 21,28 | 64,24 | 5,33 | 3,47 | 18,61 | 0,21 | 16,54 |
| | 1,19 | 0,98 | 5,95 | 22,20 | 7,99 | 14,21 | 1,42 | 2,51 | 21,47 | 65,70 | 5,48 | 3,42 | 17,59 | 0,21 | 17,67 |
| **Média** | **1,12** | **0,92** | **5,99** | **22,20** | **7,76** | **14,44** | **1,92** | **2,50** | **21,08** | **65,49** | **5,51** | **3,50** | **17,69** | **0,20** | **16,37** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,07** | **0,03** | **0,00** | **0,25** | **0,25** | **1,03** | **0,07** | **0,52** | **1,15** | **0,19** | **0,10** | **0,87** | **0,02** | **1,39** |
| | 3,17 | 2,36 | 6,32 | 19,19 | 3,39 | 15,80 | 1,24 | 2,15 | 20,48 | 68,41 | 4,87 | 2,85 | 25,39 | 0,80 | 43,23 |
| **DCL 08** | 3,37 | 2,70 | 6,31 | 19,19 | 3,64 | 15,55 | 0,00 | 2,62 | 19,90 | 67,05 | 6,75 | 3,69 | 20,03 | 0,68 | 46,13 |
| | 3,12 | 2,41 | 6,39 | 22,20 | 6,02 | 16,18 | 0,00 | 2,59 | 20,51 | 64,78 | 7,50 | 4,62 | 22,84 | 0,71 | 41,33 |
| **Média** | **3,22** | **2,49** | **6,34** | **20,19** | **4,35** | **15,84** | **0,41** | **2,45** | **20,30** | **66,75** | **6,37** | **3,72** | **22,75** | **0,73** | **43,57** |
| **Desvio** | **0,14** | **0,18** | **0,04** | **1,74** | **1,45** | **0,32** | **0,71** | **0,26** | **0,34** | **1,84** | **1,36** | **0,89** | **2,68** | **0,07** | **2,42** |
| | 2,65 | 2,01 | 6,34 | 22,20 | 6,34 | 15,86 | 1,31 | 2,30 | 21,74 | 66,82 | 4,87 | 2,96 | 24,22 | 0,64 | 35,93 |
| **DCL 11** | 2,48 | 1,95 | 6,36 | 22,20 | 6,54 | 15,65 | 1,04 | 2,38 | 22,51 | 66,24 | 4,82 | 3,01 | 21,49 | 0,53 | 33,87 |
| | 2,49 | 1,97 | 6,38 | 22,20 | 6,73 | 15,47 | 1,14 | 2,35 | 22,55 | 66,14 | 4,91 | 2,90 | 20,69 | 0,51 | 34,18 |
| **Média** | **2,54** | **1,98** | **6,36** | **22,20** | **6,53** | **15,66** | **1,17** | **2,34** | **22,27** | **66,40** | **4,87** | **2,96** | **22,13** | **0,56** | **34,66** |
| **Desvio** | **0,10** | **0,03** | **0,02** | **0,00** | **0,19** | **0,19** | **0,14** | **0,04** | **0,46** | **0,37** | **0,05** | **0,05** | **1,85** | **0,07** | **1,11** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 2,06 | 1,73 | 6,42 | 22,20 | 7,36 | 14,84 | 1,44 | 2,24 | 19,44 | 66,47 | 6,16 | 4,25 | 15,87 | 0,33 | 29,14 |
| **DCL 14** | 2,06 | 1,71 | 6,39 | 22,20 | 5,59 | 16,61 | 0,87 | 2,18 | 18,98 | 67,71 | 6,04 | 4,23 | 16,97 | 0,35 | 26,13 |
| | 2,85 | 2,38 | 6,41 | 22,20 | 7,24 | 14,96 | 1,23 | 2,07 | 18,59 | 68,04 | 5,92 | 4,15 | 16,20 | 0,46 | 39,97 |
| **Média** | **2,32** | **1,94** | **6,41** | **22,20** | **6,73** | **15,47** | **1,18** | **2,16** | **19,00** | **67,41** | **6,04** | **4,21** | **16,35** | **0,38** | **31,75** |
| **Desvio** | **0,45** | **0,38** | **0,02** | **0,00** | **0,99** | **0,99** | **0,29** | **0,09** | **0,42** | **0,83** | **0,12** | **0,05** | **0,57** | **0,07** | **7,28** |
| | 3,22 | 2,51 | 6,3 | 22,20 | 2,09 | 20,11 | 0,08 | 0,23 | 26,74 | 65,18 | 5,21 | 2,56 | 22,03 | 0,71 | 34,23 |
| **LFM 634** | 3,46 | 2,69 | 6,28 | 22,20 | 1,69 | 20,51 | 0,09 | 0,26 | 27,67 | 64,38 | 5,07 | 2,53 | 22,26 | 0,77 | 36,08 |
| | 3,37 | 2,60 | 6,29 | 22,20 | 3,67 | 18,53 | 0,07 | 2,71 | 26,42 | 63,26 | 5,05 | 2,49 | 22,68 | 0,76 | 38,87 |
| **Média** | **3,35** | **2,60** | **6,29** | **22,20** | **2,48** | **19,72** | **0,07** | **2,71** | **26,42** | **64,27** | **5,11** | **2,53** | **22,32** | **0,75** | **36,39** |
| **Desvio** | **0,12** | **0,09** | **0,01** | **0,00** | **1,05** | **1,05** | **0,01** | **1,42** | **0,65** | **0,96** | **0,09** | **0,04** | **0,33** | **0,03** | **2,34** |
| | 4,46 | 4,05 | 6,39 | 22,20 | 5,17 | 17,02 | 0,00 | 0,35 | 18,94 | 65,19 | 8,53 | 6,99 | 9,09 | 0,40 | 53,86 |
| **RMP 851-A** | 4,25 | 3,85 | 6,38 | 22,20 | 5,23 | 16,97 | 0,00 | 3,60 | 16,89 | 64,37 | 8,13 | 7,01 | 9,56 | 0,41 | 51,67 |
| | 4,54 | 4,07 | 6,42 | 22,20 | 4,90 | 17,30 | 0,00 | 4,33 | 14,14 | 62,40 | 10,66 | 8,47 | 10,40 | 0,47 | 54,29 |
| **Média** | **4,42** | **3,99** | **6,40** | **22,20** | **5,10** | **17,10** | **0,00** | **2,76** | **16,66** | **63,99** | **9,11** | **7,49** | **9,68** | **0,43** | **53,28** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,12** | **0,02** | **0,00** | **0,18** | **0,18** | **0,00** | **2,12** | **2,41** | **1,44** | **1,36** | **0,85** | **0,66** | **0,04** | **1,40** |
| | 2,53 | 2,08 | 6,22 | 22,20 | 6,37 | 15,83 | 0,79 | 0,25 | 25,26 | 65,60 | 5,56 | 2,53 | 17,47 | 0,44 | 33,65 |
| **RMP 1256** | 2,60 | 2,08 | 6,21 | 22,20 | 6,36 | 15,84 | 0,14 | 0,24 | 24,58 | 66,87 | 5,47 | 2,70 | 20,19 | 0,52 | 34,90 |
| | 2,44 | 2,06 | 6,24 | 22,20 | 6,37 | 15,83 | 0,12 | 0,34 | 24,17 | 66,15 | 6,50 | 2,72 | 15,66 | 0,38 | 32,35 |
| **Média** | **2,52** | **2,07** | **6,22** | **22,20** | **6,37** | **15,83** | **0,35** | **0,27** | **24,67** | **66,21** | **5,84** | **2,65** | **17,77** | **0,45** | **33,63** |
| **Desvio** | **0,08** | **0,01** | **0,02** | **0,00** | **0,01** | **0,01** | **0,38** | **0,06** | **0,55** | **0,63** | **0,57** | **0,10** | **2,28** | **0,07** | **1,28** |
| | 2,32 | 2,15 | 6,32 | 22,2 | 0,1 | 22,1 | 44,51 | 1,1 | 5,21 | 35,14 | 8,95 | 5,08 | 7,42 | 0,17 | 21,11 |
| **RMP 1305** | 2,39 | 2,21 | 6,28 | 22,20 | 0,13 | 22,07 | 54,18 | 0,92 | 3,23 | 29,51 | 8,21 | 3,96 | 7,66 | 0,18 | 22,02 |
| | 2,33 | 2,19 | 6,28 | 22,20 | 0,13 | 22,06 | 56,85 | 0,00 | 2,33 | 30,89 | 6,18 | 3,75 | 5,70 | 0,13 | 21,33 |
| **Média** | **2,35** | **2,18** | **6,29** | **22,20** | **0,12** | **22,08** | **51,85** | **0,67** | **3,59** | **31,84** | **7,78** | **4,26** | **6,93** | **0,16** | **21,49** |
| **Desvio** | **0,04** | **0,03** | **0,02** | **0,00** | **0,02** | **0,02** | **6,49** | **0,59** | **1,47** | **2,94** | **1,44** | **0,72** | **1,07** | **0,03** | **0,48** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 2,39 | 2,06 | 6,18 | 22,20 | 4,98 | 17,22 | 0 | 2,19 | 22,98 | 65,08 | 7,32 | 2,44 | 13,65 | 0,33 | 28,95 |
| RMP 1315 | 2,39 | 2,04 | 6,15 | 22,20 | 4,56 | 17,63 | 0,00 | 3,03 | 21,91 | 65,17 | 7,41 | 2,48 | 14,83 | 0,35 | 28,36 |
| | 2,19 | 1,94 | 6,24 | 22,20 | 5,07 | 17,12 | 0,00 | 3,38 | 21,35 | 62,88 | 9,59 | 2,81 | 11,29 | 0,25 | 26,48 |
| **Média** | **2,29** | **1,99** | **6,20** | **22,20** | **4,82** | **17,38** | **0,00** | **3,21** | **21,63** | **64,02** | **8,50** | **2,64** | **13,06** | **0,30** | **27,93** |
| **Desvio** | **0,14** | **0,07** | **0,06** | **0,00** | **0,36** | **0,36** | **0,00** | **0,25** | **0,39** | **1,62** | **1,54** | **0,23** | **2,50** | **0,08** | **1,29** |
| | 2,18 | 1,88 | 6,26 | 22,20 | 6,79 | 15,41 | 5,19 | 3,78 | 33,67 | 33,90 | 17,39 | 6,07 | 13,95 | 0,30 | 29,52 |
| RMP 1316 | 2,75 | 2,30 | 6,23 | 22,20 | 6,18 | 16,02 | 0,00 | 3,09 | 23,10 | 61,31 | 8,57 | 3,93 | 16,64 | 0,46 | 36,19 |
| | 2,44 | 2,03 | 6,23 | 22,20 | 6,23 | 15,97 | 0,00 | 3,02 | 23,54 | 63,30 | 6,93 | 3,20 | 16,67 | 0,41 | 32,14 |
| **Média** | **2,46** | **2,07** | **6,24** | **22,20** | **6,40** | **15,80** | **1,73** | **3,30** | **26,77** | **52,84** | **10,96** | **4,40** | **15,75** | **0,39** | **32,62** |
| **Desvio** | **0,29** | **0,21** | **0,02** | **0,00** | **0,34** | **0,34** | **2,99** | **0,42** | **5,98** | **16,43** | **5,62** | **1,49** | **1,56** | **0,08** | **3,36** |
| | 2,72 | 2,24 | 6,27 | 22,20 | 6,28 | 15,91 | 0,10 | 2,73 | 23,20 | 64,86 | 6,22 | 2,88 | 17,49 | 0,48 | 36,05 |
| RMP 1321 | 2,44 | 2,08 | 6,19 | 22,20 | 5,34 | 16,86 | 0,14 | 2,46 | 20,76 | 63,39 | 10,42 | 2,84 | 14,62 | 0,36 | 30,21 |
| | 2,18 | 1,80 | 6,26 | 22,20 | 6,15 | 16,05 | 0,10 | 2,82 | 23,37 | 64,29 | 6,69 | 2,74 | 17,18 | 0,37 | 28,61 |
| **Média** | **2,44** | **2,04** | **6,24** | **22,20** | **5,92** | **16,27** | **0,11** | **2,67** | **22,44** | **64,18** | **7,78** | **2,82** | **16,43** | **0,40** | **31,62** |
| **Desvio** | **0,27** | **0,22** | **0,04** | **0,00** | **0,51** | **0,51** | **0,02** | **0,19** | **1,46** | **0,74** | **2,30** | **0,07** | **1,57** | **0,06** | **3,92** |
| | 3,50 | 2,75 | 6,25 | 22,20 | 2,78 | 19,41 | 0,07 | 1,85 | 20,50 | 69,59 | 5,55 | 2,44 | 21,33 | 0,75 | 38,46 |
| RMP 1484 | 3,04 | 2,41 | 6,22 | 22,20 | 3,05 | 19,15 | 0,08 | 2,53 | 24,32 | 70,12 | 0,55 | 2,41 | 20,88 | 0,63 | 33,80 |
| | 3,05 | 2,38 | 6,22 | 22,20 | 2,90 | 19,29 | 0,11 | 1,73 | 21,46 | 68,64 | 5,65 | 2,40 | 22,09 | 0,67 | 33,85 |
| **Média** | **3,20** | **2,51** | **6,23** | **22,20** | **2,91** | **19,28** | **0,09** | **2,04** | **22,09** | **69,45** | **3,92** | **2,42** | **21,43** | **0,69** | **35,37** |
| **Desvio** | **0,26** | **0,21** | **0,02** | **0,00** | **0,13** | **0,13** | **0,02** | **0,43** | **1,99** | **0,75** | **2,92** | **0,03** | **0,61** | **0,06** | **2,68** |
| | 3,05 | 2,53 | 6,25 | 22,20 | 4,79 | 17,40 | 0,00 | 2,58 | 23,78 | 65,28 | 5,64 | 2,73 | 16,85 | 0,51 | 36,83 |
| RMP 1486 | 3,16 | 2,54 | 6,3 | 22,20 | 4,52 | 17,67 | 0,10 | 1,76 | 22,45 | 66,96 | 5,70 | 3,02 | 19,39 | 0,61 | 37,87 |
| | 3,13 | 2,45 | 6,25 | 22,20 | 5,01 | 17,19 | 0,00 | 2,70 | 22,90 | 66,20 | 5,46 | 2,74 | 21,84 | 0,68 | 38,97 |
| **Média** | **3,11** | **2,51** | **6,27** | **22,20** | **4,78** | **17,42** | **0,03** | **2,35** | **23,04** | **66,15** | **5,60** | **2,83** | **19,36** | **0,60** | **37,89** |
| **Desvio** | **0,06** | **0,05** | **0,03** | **0,00** | **0,24** | **0,24** | **0,06** | **0,51** | **0,68** | **0,84** | **0,12** | **0,17** | **2,49** | **0,09** | **1,07** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 4,72 | 4,26 | 6,36 | 22,20 | 5,60 | 16,60 | 2,29 | 0,25 | 14,05 | 55,75 | 14,39 | 13,27 | 9,66 | 0,46 | 58,65 |
| SCU 99 | 4,91 | 4,40 | 6,36 | 22,20 | 5,73 | 16,46 | 2,23 | 0,23 | 11,88 | 54,84 | 13,07 | 17,75 | 10,39 | 0,51 | 61,62 |
| | 4,84 | 4,40 | 6,35 | 22,20 | 5,81 | 16,39 | 2,64 | 0,15 | 17,43 | 55,53 | 14,60 | 9,64 | 9,22 | 0,45 | 60,87 |
| **Média** | **4,82** | **4,35** | **6,36** | **22,20** | **5,71** | **16,49** | **2,39** | **0,21** | **14,45** | **55,37** | **14,02** | **13,55** | **9,76** | **0,47** | **60,38** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,08** | **0,01** | **0,00** | **0,11** | **0,11** | **0,22** | **0,05** | **2,80** | **0,48** | **0,83** | **4,06** | **0,59** | **0,03** | **1,55** |
| | 4,65 | 4,04 | 6,48 | 22,20 | 0,44 | 21,76 | 0,14 | 0,03 | 15,70 | 60,65 | 11,61 | 11,86 | 13,13 | 0,61 | 44,52 |
| SCU 101 | 4,61 | 3,95 | 6,44 | 22,20 | 0,84 | 21,36 | 0,13 | 2,90 | 19,26 | 56,80 | 10,50 | 10,41 | 14,24 | 0,66 | 45,09 |
| | 4,73 | 4,10 | 6,42 | 22,20 | 0,20 | 22,00 | 0,12 | 2,76 | 18,17 | 57,73 | 10,58 | 10,63 | 13,31 | 0,63 | 44,80 |
| **Média** | **4,66** | **4,03** | **6,45** | **22,20** | **0,49** | **21,71** | **0,13** | **1,90** | **17,71** | **58,39** | **10,90** | **10,97** | **13,56** | **0,63** | **44,80** |
| **Desvio** | **0,06** | **0,07** | **0,03** | **0,00** | **0,32** | **0,32** | **0,01** | **1,62** | **1,82** | **2,01** | **0,62** | **0,78** | **0,59** | **0,02** | **0,29** |
| | 2,91 | 2,53 | 6,43 | 22,20 | 6,69 | 15,51 | 4,84 | 1,50 | 8,48 | 65,78 | 10,73 | 8,68 | 13,06 | 0,38 | 39,02 |
| SCU 164 | 3,34 | 2,87 | 6,41 | 22,20 | 7,88 | 14,32 | 4,31 | 1,43 | 9,00 | 66,10 | 10,30 | 8,86 | 14,16 | 0,47 | 48,83 |
| | 3,25 | 2,76 | 6,39 | 22,20 | 9,12 | 13,07 | 3,81 | 1,44 | 9,10 | 66,46 | 10,04 | 9,16 | 15,35 | 0,50 | 52,23 |
| **Média** | **3,17** | **2,72** | **6,41** | **22,20** | **7,90** | **14,30** | **4,32** | **1,46** | **8,86** | **66,11** | **10,35** | **8,90** | **14,19** | **0,45** | **46,70** |
| **Desvio** | **0,23** | **0,18** | **0,02** | **0,00** | **1,22** | **1,22** | **0,51** | **0,04** | **0,33** | **0,34** | **0,35** | **0,24** | **1,15** | **0,06** | **6,86** |
| | 2,41 | 2,20 | 6,32 | 19,19 | 4,68 | 14,51 | 0,68 | 2,02 | 17,57 | 62,86 | 8,03 | 8,85 | 8,63 | 0,21 | 34,13 |
| TSM 33 | 2,71 | 2,46 | 6,2 | 22,20 | 4,27 | 17,93 | 0,24 | 0,33 | 20,51 | 63,40 | 12,21 | 3,32 | 9,22 | 0,25 | 31,06 |
| | 2,73 | 2,48 | 6,21 | 22,20 | 3,95 | 18,24 | 0,25 | 0,41 | 20,93 | 64,06 | 10,19 | 4,17 | 9,05 | 0,25 | 30,79 |
| **Média** | **2,61** | **2,38** | **6,24** | **21,19** | **4,30** | **16,90** | **0,39** | **0,92** | **19,67** | **63,44** | **10,14** | **5,45** | **8,97** | **0,23** | **31,99** |
| **Desvio** | **0,18** | **0,15** | **0,07** | **1,74** | **0,36** | **2,07** | **0,25** | **0,95** | **1,83** | **0,60** | **2,09** | **2,98** | **0,30** | **0,02** | **1,86** |
| | 2,72 | 2,40 | 6,27 | 22,20 | 5,71 | 16,49 | 0,00 | 0,32 | 21,29 | 59,77 | 10,07 | 8,54 | 12,00 | 0,33 | 34,32 |
| TSM 36 | 2,42 | 2,19 | 6,27 | 22,20 | 5,86 | 16,33 | 0,00 | 0,28 | 15,89 | 71,26 | 9,32 | 3,25 | 9,36 | 0,23 | 30,51 |
| | 2,62 | 2,33 | 6,24 | 22,20 | 6,35 | 15,85 | 0,19 | 2,70 | 16,64 | 66,92 | 9,99 | 3,56 | 10,97 | 0,29 | 34,14 |
| **Média** | **2,59** | **2,31** | **6,26** | **22,20** | **5,97** | **16,22** | **0,06** | **1,10** | **17,94** | **65,99** | **9,79** | **5,11** | **10,78** | **0,28** | **32,99** |
| **Desvio** | **0,15** | **0,10** | **0,02** | **0,00** | **0,34** | **0,34** | **0,11** | **1,39** | **2,93** | **5,80** | **0,41** | **2,97** | **1,33** | **0,05** | **2,15** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 2,80 | 2,17 | 6,28 | 22,20 | 4,80 | 17,40 | 0,10 | 0,35 | 22,00 | 68,50 | 6,01 | 3,14 | 22,63 | 0,63 | 34,48 |
| TSM 45 | 2,63 | 2,07 | 6,25 | 22,20 | 5,40 | 16,79 | 0,11 | 0,02 | 22,19 | 68,48 | 5,72 | 3,49 | 21,30 | 0,56 | 33,42 |
| | 2,32 | 1,85 | 6,25 | 22,20 | 5,42 | 16,78 | 0,10 | 0,29 | 22,92 | 67,31 | 5,84 | 3,53 | 20,06 | 0,47 | 29,40 |
| **Média** | **2,58** | **2,03** | **6,26** | **22,20** | **5,21** | **16,99** | **0,10** | **0,22** | **22,37** | **68,10** | **5,85** | **3,39** | **21,33** | **0,55** | **32,43** |
| **Desvio** | **0,24** | **0,16** | **0,02** | **0,00** | **0,35** | **0,35** | **0,00** | **0,17** | **0,49** | **0,68** | **0,15** | **0,22** | **1,29** | **0,08** | **2,68** |
| | 2,48 | 2,06 | 6,16 | 22,20 | 3,40 | 18,80 | 0,14 | 2,28 | 22,52 | 74,60 | 0,09 | 0,37 | 16,65 | 0,41 | 27,68 |
| TSM 49 | 2,68 | 2,17 | 6,25 | 22,20 | 3,14 | 19,06 | 0,11 | 2,96 | 23,77 | 72,48 | 0,63 | 0,05 | 18,71 | 0,50 | 29,67 |
| | 3,24 | 2,67 | 6,3 | 22,20 | 3,55 | 18,64 | 0,11 | 2,99 | 23,58 | 73,22 | 0,06 | 0,04 | 17,66 | 0,57 | 36,64 |
| **Média** | **2,80** | **2,30** | **6,24** | **22,20** | **3,36** | **18,83** | **0,12** | **2,74** | **23,29** | **73,43** | **0,26** | **0,15** | **17,67** | **0,49** | **31,33** |
| **Desvio** | **0,40** | **0,32** | **0,07** | **0,00** | **0,21** | **0,21** | **0,02** | **0,40** | **0,67** | **1,08** | **0,32** | **0,19** | **1,03** | **0,08** | **4,70** |
| | 2,71 | 2,21 | 6,32 | 22,20 | 7,28 | 14,92 | 0,85 | 2,55 | 21,54 | 65,74 | 5,57 | 3,75 | 18,63 | 0,50 | 38,45 |
| TSM 50 | 2,76 | 2,23 | 6,37 | 22,20 | 7,41 | 14,79 | 3,51 | 2,47 | 21,33 | 63,86 | 5,24 | 3,59 | 19,34 | 0,53 | 39,55 |
| | 2,80 | 2,30 | 6,37 | 22,20 | 7,43 | 14,77 | 1,07 | 2,45 | 21,33 | 66,19 | 5,32 | 3,65 | 17,62 | 0,49 | 39,94 |
| **Média** | **2,76** | **2,24** | **6,35** | **22,20** | **7,37** | **14,82** | **1,81** | **2,49** | **21,40** | **65,26** | **5,37** | **3,66** | **18,53** | **0,51** | **39,31** |
| **Desvio** | **0,04** | **0,05** | **0,03** | **0,00** | **0,08** | **0,08** | **1,48** | **0,05** | **0,12** | **1,24** | **0,17** | **0,08** | **0,86** | **0,02** | **0,77** |
| | 2,82 | 2,12 | 6,24 | 22,20 | 6,22 | 15,97 | 0,00 | 2,26 | 18,87 | 65,60 | 8,72 | 4,55 | 24,75 | 0,70 | 38,07 |
| TSM 55 | 3,32 | 2,54 | 6,22 | 19,19 | 5,33 | 13,85 | 0,00 | 2,78 | 20,88 | 65,41 | 6,69 | 4,24 | 23,64 | 0,78 | 51,48 |
| | 2,72 | 2,09 | 6,21 | 22,20 | 6,38 | 15,81 | 0,00 | 2,69 | 21,76 | 64,78 | 6,79 | 3,97 | 23,13 | 0,63 | 36,83 |
| **Média** | **2,95** | **2,25** | **6,22** | **21,19** | **5,98** | **15,21** | **0,00** | **2,58** | **20,50** | **65,26** | **7,40** | **4,26** | **23,84** | **0,70** | **42,13** |
| **Desvio** | **0,32** | **0,25** | **0,02** | **1,74** | **0,57** | **1,18** | **0,00** | **0,28** | **1,48** | **0,43** | **1,14** | **0,29** | **0,83** | **0,08** | **8,13** |
| | 3,39 | 2,67 | 6,21 | 19,19 | 5,89 | 13,30 | 0,47 | 3,09 | 20,27 | 65,68 | 6,47 | 4,02 | 21,05 | 0,71 | 54,26 |
| TSM 56 | 3,52 | 2,75 | 6,29 | 22,20 | 5,70 | 16,50 | 0,43 | 2,38 | 21,63 | 65,24 | 6,43 | 3,89 | 21,78 | 0,77 | 45,59 |
| | 3,00 | 2,30 | 6,2 | 22,20 | 5,94 | 16,26 | 0,46 | 2,73 | 21,53 | 63,49 | 6,95 | 4,84 | 23,41 | 0,70 | 39,62 |
| **Média** | **3,30** | **2,57** | **6,23** | **21,19** | **5,84** | **15,35** | **0,45** | **2,74** | **22,96** | **67,69** | **5,80** | **3,55** | **19,41** | **0,73** | **46,49** |
| **Desvio** | **0,27** | **0,24** | **0,05** | **1,74** | **0,13** | **1,78** | **0,02** | **0,35** | **0,76** | **1,16** | **0,29** | **0,51** | **1,21** | **0,03** | **7,36** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 2,95 | 2,18 | 6,03 | 22,20 | 4,36 | 17,84 | 1,17 | 2,52 | 20,87 | 62,55 | 6,28 | 6,61 | 26,08 | 0,77 | 35,78 |
| TSM 60 | 2,74 | 2,10 | 6,03 | 22,20 | 4,43 | 17,77 | 1,24 | 2,37 | 20,95 | 64,61 | 5,75 | 5,07 | 23,33 | 0,64 | 33,09 |
| | 2,96 | 2,22 | 6,03 | 22,20 | 3,37 | 18,83 | 1,22 | 2,63 | 20,63 | 62,92 | 7,62 | 4,98 | 24,88 | 0,74 | 33,89 |
| **Média** | **2,88** | **2,17** | **6,03** | **22,20** | **4,05** | **18,15** | **1,21** | **2,51** | **20,82** | **63,36** | **4,52** | **2,69** | **24,76** | **0,72** | **34,26** |
| **Desvio** | **0,12** | **0,06** | **0,00** | **0,00** | **0,59** | **0,59** | **0,04** | **0,13** | **0,17** | **1,10** | **0,96** | **0,92** | **1,38** | **0,07** | **1,38** |
| | 4,05 | 2,85 | 6,02 | 22,20 | 3,94 | 18,26 | 0,00 | 1,09 | 14,50 | 70,11 | 9,33 | 4,97 | 29,74 | 1,20 | 48,56 |
| TSM 80 | 3,99 | 2,84 | 6,03 | 22,20 | 3,70 | 18,50 | 0,00 | 0,93 | 13,65 | 73,30 | 8,22 | 3,89 | 28,82 | 1,15 | 47,03 |
| | 3,88 | 2,86 | 6,02 | 22,20 | 3,94 | 18,26 | 0,00 | 1,04 | 14,64 | 74,37 | 6,22 | 3,73 | 26,27 | 1,02 | 46,03 |
| **Média** | **3,97** | **2,85** | **6,02** | **22,20** | **3,86** | **18,34** | **0,00** | **1,02** | **14,26** | **72,60** | **7,92** | **4,20** | **28,28** | **1,12** | **47,21** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,01** | **0,01** | **0,00** | **0,14** | **0,14** | **0,00** | **0,08** | **0,54** | **2,22** | **1,58** | **0,67** | **1,80** | **0,09** | **1,28** |
| | 3,11 | 2,48 | 6,07 | 22,20 | 3,09 | 19,11 | 0,94 | 2,70 | 19,52 | 69,28 | 4,86 | 2,70 | 20,11 | 0,63 | 34,59 |
| TSM 89 | 3,98 | 3,18 | 6,05 | 22,20 | 3,98 | 18,22 | 1,12 | 2,62 | 18,86 | 67,08 | 7,04 | 3,28 | 20,10 | 0,80 | 46,37 |
| | 2,84 | 2,28 | 6,06 | 22,20 | 3,58 | 18,62 | 0,92 | 2,61 | 19,19 | 67,66 | 6,49 | 3,14 | 19,81 | 0,56 | 32,40 |
| **Média** | **3,31** | **2,65** | **6,06** | **22,20** | **3,55** | **18,65** | **0,99** | **2,64** | **19,19** | **68,01** | **6,13** | **3,04** | **20,01** | **0,66** | **37,78** |
| **Desvio** | **0,59** | **0,47** | **0,01** | **0,00** | **0,44** | **0,44** | **0,11** | **0,05** | **0,33** | **1,14** | **1,13** | **0,30** | **0,17** | **0,12** | **7,51** |
| | 3,09 | 2,45 | 6,02 | 22,20 | 4,20 | 18,00 | 0,67 | 2,55 | 21,92 | 60,85 | 9,35 | 4,66 | 20,48 | 0,63 | 36,49 |
| TSM 94 | 3,16 | 2,46 | 6 | 22,20 | 1,75 | 20,45 | 0,72 | 2,57 | 21,46 | 61,98 | 9,00 | 4,28 | 22,08 | 0,70 | 33,04 |
| | 3,16 | 2,46 | 6,02 | 22,20 | 4,13 | 18,07 | 1,55 | 2,26 | 20,90 | 59,02 | 10,79 | 5,49 | 22,29 | 0,70 | 37,43 |
| **Média** | **3,14** | **2,46** | **6,01** | **22,20** | **3,36** | **18,84** | **0,98** | **2,46** | **21,42** | **60,62** | **9,71** | **4,81** | **21,62** | **0,68** | **35,66** |
| **Desvio** | **0,04** | **0,00** | **0,01** | **0,00** | **1,40** | **1,40** | **0,49** | **0,17** | **0,51** | **1,49** | **0,95** | **0,62** | **0,99** | **0,04** | **2,31** |
| | 2,94 | 2,36 | 6,22 | 22,20 | 5,08 | 17,12 | 0,07 | 1,73 | 17,34 | 73,83 | 6,59 | 0,43 | 19,63 | 0,58 | 36,40 |
| TSM 95 | 2,77 | 2,29 | 6,28 | 22,20 | 5,16 | 17,03 | 0,08 | 1,75 | 18,10 | 72,62 | 7,01 | 0,44 | 17,55 | 0,49 | 34,37 |
| | 2,91 | 2,38 | 6,23 | 22,20 | 4,69 | 17,51 | 0,08 | 1,81 | 18,41 | 78,55 | 0,69 | 0,47 | 18,21 | 0,53 | 35,18 |
| **Média** | **2,87** | **2,34** | **6,24** | **22,20** | **4,98** | **17,22** | **0,08** | **1,76** | **17,95** | **75,00** | **4,76** | **0,45** | **18,46** | **0,53** | **35,32** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,05** | **0,03** | **0,00** | **0,25** | **0,25** | **0,00** | **0,04** | **0,55** | **3,13** | **3,54** | **0,02** | **1,06** | **0,04** | **1,02** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 4,58 | 3,24 | 6,19 | 19,19 | 0,00 | 19,19 | 0,00 | 1,53 | 15,13 | 73,67 | 6,10 | 3,57 | 29,26 | 1,34 | 52,21 |
| TSM 97 | 2,94 | 2,37 | 6,22 | 22,20 | 4,96 | 17,23 | 0,07 | 1,62 | 18,19 | 72,70 | 7,02 | 0,41 | 19,50 | 0,57 | 36,20 |
| | 4,23 | 3,06 | 6,21 | 19,19 | 0,00 | 19,19 | 0,00 | 1,70 | 15,94 | 73,31 | 5,65 | 3,39 | 27,68 | 1,17 | 47,88 |
| **Média** | **3,92** | **2,89** | **6,21** | **20,19** | **1,65** | **18,54** | **0,02** | **1,62** | **16,42** | **73,23** | **6,26** | **2,46** | **25,48** | **1,03** | **45,43** |
| **Desvio** | **0,86** | **0,46** | **0,02** | **1,74** | **2,87** | **1,13** | **0,04** | **0,09** | **1,58** | **0,49** | **0,70** | **1,78** | **5,24** | **0,40** | **8,28** |
| | 2,97 | 2,03 | 6,28 | 19,78 | 8,55 | 11,23 | 0,21 | 1,38 | 17,31 | 77,27 | 0,50 | 3,33 | 31,52 | 0,94 | 58,11 |
| TSM 98 | 3,00 | 2,09 | 6,31 | 19,78 | 9,81 | 9,97 | 0,19 | 1,35 | 16,20 | 74,03 | 5,19 | 3,04 | 30,44 | 0,91 | 65,92 |
| | 3,38 | 2,39 | 6,3 | 19,78 | 8,16 | 11,62 | 0,24 | 1,36 | 18,46 | 76,56 | 0,17 | 3,21 | 29,39 | 0,99 | 63,47 |
| **Média** | **3,12** | **2,17** | **6,30** | **19,78** | **8,84** | **10,94** | **0,22** | **1,36** | **17,32** | **75,96** | **1,95** | **3,19** | **30,45** | **0,95** | **62,50** |
| **Desvio** | **0,23** | **0,19** | **0,02** | **0,00** | **0,86** | **0,86** | **0,03** | **0,02** | **1,13** | **1,71** | **2,81** | **0,14** | **1,06** | **0,04** | **4,00** |
| | 2,50 | 1,75 | 6,29 | 22,20 | 6,60 | 15,60 | 0,00 | 0,96 | 13,58 | 72,62 | 8,25 | 4,60 | 29,82 | 0,75 | 35,10 |
| TSM 101 | 3,50 | 2,62 | 6,27 | 22,20 | 5,96 | 16,24 | 0,00 | 1,35 | 16,96 | 66,76 | 10,01 | 4,93 | 25,28 | 0,88 | 46,56 |
| | 3,00 | 2,08 | 6,28 | 22,20 | 5,08 | 17,12 | 0,00 | 1,03 | 15,51 | 72,88 | 7,10 | 3,48 | 30,53 | 0,92 | 38,44 |
| **Média** | **3,00** | **2,15** | **6,28** | **22,20** | **5,88** | **16,32** | **0,00** | **1,11** | **15,35** | **70,75** | **8,45** | **4,33** | **28,54** | **0,85** | **40,04** |
| **Desvio** | **0,50** | **0,43** | **0,01** | **0,00** | **0,76** | **0,76** | **0,00** | **0,21** | **1,69** | **3,46** | **1,47** | **0,76** | **2,85** | **0,09** | **5,89** |
| | 4,02 | 3,60 | 6,02 | 22,20 | 5,95 | 16,24 | 0,17 | 2,31 | 18,13 | 65,16 | 11,44 | 2,80 | 10,57 | 0,43 | 51,21 |
| TSM 102 | 3,93 | 3,56 | 6,03 | 22,20 | 5,58 | 16,62 | 0,20 | 1,70 | 17,13 | 65,45 | 12,09 | 3,43 | 9,36 | 0,37 | 48,69 |
| | 3,70 | 3,32 | 6,06 | 22,20 | 5,64 | 16,55 | 0,18 | 2,39 | 19,61 | 62,42 | 12,16 | 3,24 | 10,32 | 0,38 | 46,22 |
| **Média** | **3,89** | **3,49** | **6,04** | **22,20** | **5,72** | **16,47** | **0,18** | **2,13** | **18,29** | **64,34** | **11,90** | **3,15** | **10,08** | **0,39** | **48,71** |
| **Desvio** | **0,16** | **0,15** | **0,02** | **0,00** | **0,20** | **0,20** | **0,02** | **0,38** | **1,25** | **1,67** | **0,39** | **0,32** | **0,64** | **0,03** | **2,49** |
| | 2,94 | 2,38 | 6,37 | 22,20 | 5,37 | 16,83 | 0,88 | 1,31 | 16,76 | 72,04 | 5,57 | 3,44 | 19,13 | 0,56 | 37,10 |
| TSM 103 | 2,45 | 1,95 | 6,39 | 22,20 | 6,22 | 15,98 | 0,00 | 1,23 | 14,15 | 75,48 | 5,40 | 3,75 | 20,44 | 0,50 | 32,72 |
| | 2,82 | 2,23 | 6,38 | 22,20 | 5,61 | 16,59 | 0,59 | 1,35 | 15,24 | 74,05 | 5,35 | 3,43 | 21,05 | 0,59 | 36,25 |
| **Média** | **2,74** | **2,19** | **6,38** | **22,20** | **5,73** | **16,47** | **0,49** | **1,29** | **15,38** | **73,86** | **5,44** | **3,54** | **20,21** | **0,55** | **35,35** |
| **Desvio** | **0,25** | **0,22** | **0,01** | **0,00** | **0,44** | **0,44** | **0,45** | **0,06** | **1,31** | **1,73** | **0,12** | **0,18** | **0,98** | **0,05** | **2,32** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Glicerol (15 g/L) (Conclusão)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Glicerol (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 3,35 | 3,01 | 6,24 | 19,19 | 4,20 | 14,99 | 0,67 | 4,86 | 17,46 | 67,02 | 4,04 | 5,96 | 10,06 | 0,34 | 46,11 |
| TSM 130 | 2,39 | 2,16 | 6,39 | 22,20 | 5,94 | 16,26 | 0,62 | 2,01 | 21,44 | 67,55 | 5,17 | 3,21 | 9,61 | 0,23 | 30,22 |
| | 3,20 | 2,85 | 6,25 | 19,19 | 4,00 | 15,19 | 0,96 | 0,20 | 15,40 | 66,59 | 7,87 | 8,98 | 10,65 | 0,34 | 43,51 |
| **Média** | **2,98** | **2,67** | **6,29** | **20,19** | **4,71** | **15,48** | **0,75** | **2,36** | **18,10** | **67,05** | **5,69** | **6,05** | **10,11** | **0,30** | **39,95** |
| **Desvio** | **0,52** | **0,46** | **0,08** | **1,74** | **1,07** | **0,68** | **0,18** | **2,35** | **3,07** | **0,48** | **1,97** | **2,89** | **0,52** | **0,06** | **8,52** |
| | 4,35 | 2,94 | 6,21 | 22,20 | 5,44 | 16,75 | 0,00 | 1,32 | 15,72 | 85,44 | 6,67 | 4,92 | 32,48 | 1,41 | 57,28 |
| TSM 131 | 4,69 | 3,21 | 6,23 | 22,20 | 3,59 | 18,61 | 1,99 | 1,34 | 14,70 | 86,83 | 5,43 | 4,00 | 31,56 | 1,48 | 55,40 |
| | 4,76 | 3,35 | 6,21 | 22,20 | 5,30 | 16,90 | 0,00 | 1,31 | 16,78 | 91,77 | 0,62 | 4,63 | 29,49 | 1,40 | 61,49 |
| **Média** | **4,60** | **3,17** | **6,22** | **22,20** | **4,78** | **17,42** | **0,66** | **1,32** | **15,73** | **88,01** | **4,24** | **4,52** | **31,18** | **1,43** | **58,06** |
| **Desvio** | **0,22** | **0,21** | **0,01** | **0,00** | **1,03** | **1,03** | **1,15** | **0,02** | **1,04** | **3,33** | **3,20** | **0,47** | **1,53** | **0,04** | **3,12** |
| | 2,50 | 1,99 | 6,28 | 22,20 | 5,27 | 16,92 | 0,11 | 2,21 | 21,34 | 68,78 | 7,18 | 0,37 | 20,27 | 0,51 | 31,41 |
| TSM 132 | 2,28 | 1,82 | 6,28 | 22,20 | 5,41 | 16,79 | 0,11 | 2,16 | 20,82 | 65,61 | 7,69 | 3,61 | 20,12 | 0,46 | 28,88 |
| | 2,29 | 1,82 | 6,29 | 22,20 | 6,04 | 16,16 | 0,12 | 2,62 | 21,38 | 68,21 | 7,31 | 0,37 | 20,33 | 0,47 | 30,12 |
| **Média** | **2,36** | **1,88** | **6,28** | **22,20** | **5,57** | **16,62** | **0,11** | **2,33** | **21,18** | **67,53** | **7,39** | **1,45** | **20,24** | **0,48** | **30,13** |
| **Desvio** | **0,12** | **0,10** | **0,01** | **0,00** | **0,41** | **0,41** | **0,00** | **0,25** | **0,31** | **1,69** | **0,27** | **1,87** | **0,11** | **0,03** | **1,27** |
| | 2,53 | 1,93 | 6,27 | 22,20 | 4,85 | 17,35 | 0,45 | 2,72 | 20,35 | 65,43 | 5,96 | 5,08 | 23,68 | 0,60 | 31,33 |
| TSM 133 | 2,25 | 1,72 | 6,27 | 22,20 | 4,60 | 17,60 | 0,93 | 2,69 | 21,05 | 65,06 | 5,45 | 4,82 | 23,49 | 0,53 | 27,45 |
| | 2,96 | 2,30 | 6,27 | 22,20 | 4,65 | 17,55 | 0,93 | 2,72 | 20,49 | 64,34 | 6,11 | 5,41 | 22,26 | 0,66 | 36,08 |
| **Média** | **2,58** | **1,98** | **6,27** | **22,20** | **4,70** | **17,50** | **0,77** | **2,71** | **20,63** | **64,94** | **5,84** | **5,10** | **23,15** | **0,60** | **31,62** |
| **Desvio** | **0,36** | **0,29** | **0,00** | **0,00** | **0,13** | **0,13** | **0,27** | **0,02** | **0,37** | **0,55** | **0,34** | **0,30** | **0,77** | **0,07** | **4,32** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato.
3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · 3HDdΔ6 - 3-hidroxi-6-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h.
%MSC - percentual da massa seca celular.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Xilose (15 g/L) e 1 g/L de $(NH4)_2SO4$

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | g/L | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 0,60 | 0,58 | 7,14 | 20,20 | 19,45 | 0,75 | 0,00 | 15,70 | 18,38 | 65,93 | 0,00 | 0,00 | 2,55 | 0,02 | ND |
| LFM 046 | 1,29 | 1,28 | 7,21 | 20,20 | 18,00 | 2,21 | 0,00 | 42,75 | 18,05 | 39,20 | 0,00 | 0,00 | 0,72 | 0,01 | ND |
| | 0,64 | 0,64 | 7,19 | 20,20 | 17,84 | 2,36 | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,27 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,84** | **0,83** | **7,18** | **20,20** | **18,43** | **1,77** | **0,00** | **52,82** | **12,14** | **35,04** | **0,00** | **0,00** | **1,18** | **0,01** | **-** |
| **Desvio** | **0,39** | **0,39** | **0,04** | **0,00** | **0,89** | **0,89** | **0,00** | **43,04** | **10,52** | **33,16** | **0,00** | **0,00** | **1,21** | **0,01** | **-** |
| | 2,70 | 2,48 | 3,72 | 20,20 | 5,35 | 14,86 | 4,72 | 0,11 | 7,37 | 74,54 | 0,17 | 13,09 | 7,85 | 0,21 | 37,18 |
| SCU 99 | 2,90 | 2,67 | 3,74 | 20,20 | 6,00 | 14,21 | 4,94 | 1,19 | 7,21 | 73,71 | 1,03 | 11,92 | 7,94 | 0,23 | 41,92 |
| | 3,02 | 2,76 | 3,75 | 20,20 | 6,42 | 13,79 | 4,68 | 1,12 | 10,54 | 70,89 | 0,89 | 11,89 | 8,54 | 0,26 | 44,99 |
| **Média** | **2,87** | **2,64** | **3,74** | **20,20** | **5,92** | **14,28** | **4,78** | **0,81** | **8,37** | **73,05** | **0,70** | **12,30** | **8,11** | **0,23** | **41,36** |
| **Desvio** | **0,16** | **0,14** | **0,02** | **0,00** | **0,54** | **0,54** | **0,14** | **0,60** | **1,88** | **1,91** | **0,46** | **0,68** | **0,37** | **0,02** | **3,93** |
| | 2,61 | 2,37 | 3.49 | 20,20 | 5,40 | 14,80 | 0,00 | 2,02 | 1,30 | 81,89 | 1,00 | 13,79 | 9,10 | 0,24 | 36,32 |
| SCU 101 | 2,72 | 2,64 | 3,52 | 20,20 | 5,93 | 14,27 | 0,00 | 7,83 | 5,19 | 31,92 | 2,70 | 52,37 | 2,64 | 0,07 | 38,48 |
| | 2,62 | 2,35 | 3,53 | 20,20 | 5,90 | 14,31 | 0,00 | 0,18 | 12,07 | 75,37 | 0,08 | 12,29 | 10,34 | 0,27 | 37,84 |
| **Média** | **2,65** | **2,45** | **3,53** | **20,20** | **5,74** | **14,46** | **0,00** | **3,34** | **6,19** | **63,06** | **1,26** | **26,15** | **7,36** | **0,19** | **37,55** |
| **Desvio** | **0,06** | **0,16** | **0,01** | **0,00** | **0,30** | **0,30** | **0,00** | **3,99** | **5,45** | **27,16** | **1,33** | **22,72** | **4,13** | **0,11** | **1,11** |
| | 3,01 | 2,71 | 3,84 | 20,20 | 4,93 | 15,27 | 3,27 | 2,21 | 9,69 | 71,74 | 0,86 | 12,22 | 10,14 | 0,31 | 40,75 |
| SCU 164 | 3,43 | 3,13 | 3,88 | 20,20 | 5,29 | 14,92 | 3,37 | 1,76 | 8,55 | 84,71 | 0,11 | 1,50 | 8,57 | 0,29 | 47,14 |
| | 2,93 | 2,67 | 3,82 | 20,20 | 4,05 | 16,15 | 3,25 | 2,36 | 1,21 | 78,87 | 0,98 | 13,33 | 8,82 | 0,26 | 37,30 |
| **Média** | **3,12** | **2,84** | **3,85** | **20,20** | **4,76** | **15,45** | **3,30** | **2,11** | **6,49** | **78,44** | **0,65** | **9,02** | **9,18** | **0,29** | **41,73** |
| **Desvio** | **0,26** | **0,26** | **0,03** | **0,00** | **0,64** | **0,64** | **0,06** | **0,31** | **4,60** | **6,49** | **0,47** | **6,53** | **0,85** | **0,02** | **4,99** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · XPHA - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos· pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. ND - Não determinado.

**ANEXO A** - Produção polihidroxialcanoatos a partir de Xilose (15 g/L) e 0,5g/L de $(NH4)_2SO4$

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| Isolados | g/L | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 0,37 | 0,36 | 7,18 | 17,88 | 16,20 | 1,68 | 54,09 | 31,77 | 14,13 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,05 | 0,01 | ND |
| **LFM 046** | 0,43 | 0,42 | 7,18 | 17,88 | 16,14 | 1,74 | 0,00 | 73,04 | 26,96 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,24 | 0,01 | ND |
| **Média** | **0,40** | **0,39** | **7,18** | **17,88** | **16,17** | **1,71** | **27,05** | **52,41** | **20,54** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **2,65** | **0,01** | **-** |
| **Desvio** | **0,05** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **0,04** | **0,04** | **38,25** | **29,18** | **9,07** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,84** | **0,00** | **-** |
| | 1,30 | 1,18 | 3,82 | 17,88 | 6,56 | 11,32 | 5,05 | 0,76 | 7,92 | 61,75 | 14,91 | 9,61 | 8,91 | 0,12 | 23,53 |
| | 1,75 | 1,60 | 3,82 | 17,88 | 7,42 | 10,46 | 3,33 | 1,15 | 9,62 | 61,79 | 14,39 | 9,72 | 8,80 | 0,15 | 34,40 |
| **SCU 99** | 1,18 | 1,08 | 3,9 | 17,88 | 6,78 | 11,11 | 3,10 | 1,41 | 7,98 | 62,93 | 14,79 | 9,80 | 8,99 | 0,11 | 21,96 |
| | 1,51 | 1,39 | 3,92 | 17,88 | 8,42 | 9,46 | 5,24 | 1,08 | 9,46 | 60,40 | 14,13 | 9,70 | 8,13 | 0,12 | 29,32 |
| **Média** | **1,43** | **1,31** | **3,87** | **17,88** | **7,29** | **10,59** | **4,18** | **1,10** | **8,75** | **61,72** | **14,55** | **9,71** | **8,71** | **0,12** | **27,30** |
| **Desvio** | **0,25** | **0,23** | **0,05** | **0,00** | **0,83** | **0,83** | **1,12** | **0,27** | **0,92** | **1,04** | **0,36** | **0,08** | **0,39** | **0,02** | **5,69** |
| | 1,11 | 1,01 | 3,46 | 17,88 | 6,79 | 11,09 | 0,00 | 2,35 | 9,33 | 65,32 | 13,71 | 9,28 | 9,26 | 0,10 | 20,72 |
| | 1,57 | 1,45 | 3,43 | 17,88 | 5,77 | 12,11 | 2,92 | 1,60 | 9,02 | 63,33 | 14,22 | 8,91 | 7,90 | 0,12 | 26,59 |
| **SCU 101** | 1,81 | 1,68 | 3,4 | 17,88 | 5,04 | 12,84 | 4,06 | 1,84 | 8,73 | 62,85 | 13,83 | 8,70 | 7,14 | 0,13 | 28,76 |
| | 1,65 | 1,49 | 3,43 | 17,88 | 6,07 | 11,81 | 0,00 | 1,99 | 9,73 | 64,78 | 14,19 | 9,32 | 9,64 | 0,16 | 25,26 |
| **Média** | **1,54** | **1,41** | **3,43** | **17,88** | **5,92** | **11,96** | **1,74** | **1,94** | **9,20** | **64,07** | **13,99** | **9,05** | **8,48** | **0,13** | **25,33** |
| **Desvio** | **0,30** | **0,28** | **0,02** | **0,00** | **0,73** | **0,73** | **2,07** | **0,32** | **0,43** | **1,17** | **0,26** | **0,30** | **1,17** | **0,02** | **3,40** |
| | 1,97 | 1,75 | 3,75 | 17,88 | 6,39 | 11,49 | 4,39 | 2,17 | 7,72 | 65,26 | 10,93 | 9,53 | 11,36 | 0,22 | 35,53 |
| | 1,69 | 1,51 | 3,77 | 17,88 | 8,00 | 9,89 | 4,20 | 0,84 | 8,18 | 66,06 | 10,90 | 9,82 | 11,13 | 0,19 | 35,52 |
| **SCU 164** | 1,25 | 1,12 | 3,86 | 17,88 | 8,04 | 9,85 | 5,89 | 1,36 | 9,44 | 71,92 | 0,44 | 10,95 | 10,21 | 0,13 | 26,21 |
| | 1,62 | 1,43 | 3,83 | 17,88 | 7,44 | 10,44 | 5,15 | 2,39 | 8,26 | 63,45 | 10,64 | 10,12 | 11,98 | 0,19 | 27,32 |
| **Média** | **1,63** | **1,45** | **3,80** | **17,88** | **7,47** | **10,41** | **4,91** | **1,69** | **8,40** | **66,67** | **8,23** | **10,10** | **11,17** | **0,18** | **31,14** |
| **Desvio** | **0,30** | **0,26** | **0,05** | **0,00** | **0,77** | **0,77** | **0,77** | **0,72** | **0,73** | **3,67** | **5,20** | **0,61** | **0,73** | **0,04** | **5,08** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · XPHA - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos· pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. ND - Não determinado.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 g/L de $(NH_4)_2SO_4$ em Reator I (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| TEMPO | g/L | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 0,08 | 0,08 | 7,02 | 15,00 | 14,25 | 0,76 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 0 | 0,09 | 0,09 | 7,02 | 15,00 | 14,19 | 0,81 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,09** | **0,09** | **7,02** | **15,00** | **14,22** | **0,78** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,01** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **0,04** | **0,04** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 0,18 | 0,18 | 7,03 | 14,25 | 14,08 | 0,17 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 2 | 0,29 | 0,29 | 7,03 | 14,19 | 14,09 | 0,09 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,24** | **0,24** | **7,03** | **14,22** | **14,09** | **0,13** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,08** | **0,08** | **0,00** | **0,04** | **0,01** | **0,05** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 0,39 | 0,39 | 6,95 | 14,08 | 13,61 | 0,47 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 4 | 0,31 | 0,31 | 6,95 | 14,09 | 13,64 | 0,46 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,35** | **0,35** | **6,95** | **14,09** | **13,62** | **0,46** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,06** | **0,06** | **0,00** | **0,01** | **0,02** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 0,60 | 0,60 | 6,88 | 13,61 | 12,72 | 0,89 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 6 | 0,55 | 0,55 | 6,88 | 13,64 | 12,71 | 0,92 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,58** | **0,58** | **6,88** | **13,62** | **12,72** | **0,91** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,04** | **0,04** | **0,00** | **0,02** | **0,00** | **0,02** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 1,20 | 1,20 | 6,8 | 12,72 | 11,27 | 1,45 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 8 | 1,23 | 1,21 | 6,8 | 12,71 | 10,97 | 1,74 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 38,74 | 21,12 | 40,13 | 1,66 | 0,02 | ND |
| **Média** | **1,22** | **1,20** | **6,80** | **12,72** | **11,12** | **1,60** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **19,37** | **10,56** | **20,07** | **0,83** | **0,01** | - |
| **Desvio** | **0,02** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **0,21** | **0,21** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **27,39** | **14,93** | **28,38** | **1,17** | **0,01** | - |
| | 1,33 | 1,31 | 6,82 | 11,27 | 10,12 | 1,14 | 0,00 | 25,36 | 0,00 | 37,30 | 18,76 | 18,58 | 1,32 | 0,02 | ND |
| 10 | 1,32 | 1,28 | 6,82 | 10,97 | 10,23 | 0,74 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 17,25 | 19,01 | 16,91 | 2,87 | 0,04 | ND |
| **Média** | **1,33** | **1,30** | **6,82** | **11,12** | **10,18** | **0,94** | **0,00** | **12,68** | **0,00** | **27,28** | **18,89** | **17,75** | **2,10** | **0,03** | - |
| **Desvio** | **0,01** | **0,02** | **0,00** | **0,21** | **0,07** | **0,28** | **0,00** | **17,93** | **0,00** | **14,18** | **0,18** | **1,18** | **1,10** | **0,01** | - |

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 g/L de (NH4)2SO4 em Reator I (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| TEMPO | g/L | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 1,50 | 1,48 | 6,74 | 10,12 | 8,20 | 1,92 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 41,27 | 0,00 | 58,73 | 1,21 | 0,02 | ND |
| **12** | 1,32 | 1,30 | 6,74 | 10,23 | 8,27 | 1,96 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 35,46 | 33,97 | 30,57 | 1,66 | 0,02 | ND |
| **Média** | **1,41** | **1,39** | **6,74** | **10,18** | **8,24** | **1,94** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **38,37** | **16,99** | **44,65** | **1,44** | **0,02** | **-** |
| **Desvio** | **0,13** | **0,13** | **0,00** | **0,07** | **0,05** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **4,11** | **24,02** | **19,91** | **0,32** | **0,00** | - |
| | 2,11 | 2,07 | 6,9 | 8,20 | 5,74 | 2,47 | 27,81 | 16,65 | 0,00 | 25,06 | 16,04 | 14,44 | 1,76 | 0,04 | ND |
| **14** | 2,06 | 2,03 | 6,9 | 8,27 | 5,71 | 2,56 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 36,57 | 42,01 | 21,42 | 1,48 | 0,03 | ND |
| **Média** | **1,42** | **1,40** | **5,67** | **7,84** | **6,03** | **1,81** | **4,64** | **2,78** | **0,00** | **30,14** | **22,17** | **31,62** | **1,31** | **0,02** | - |
| **Desvio** | **0,72** | **0,70** | **2,78** | **3,93** | **3,18** | **0,92** | **11,35** | **6,80** | **0,00** | **13,89** | **14,78** | **16,98** | **0,52** | **0,01** | - |
| | 2,48 | 2,44 | 6,69 | 17,23 | 16,87 | 0,36 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 38,71 | 32,20 | 29,09 | 1,60 | 0,04 | ND |
| **16** | 2,60 | 2,55 | 6,69 | 17,56 | 16,85 | 0,71 | 30,54 | 0,00 | 0,00 | 28,03 | 15,34 | 26,10 | 1,99 | 0,05 | ND |
| **Média** | **2,54** | **2,49** | **6,69** | **17,40** | **16,86** | **0,53** | **15,27** | **0,00** | **0,00** | **33,37** | **23,77** | **27,60** | **1,80** | **0,05** | - |
| **Desvio** | **0,08** | **0,08** | **0,00** | **0,23** | **0,01** | **0,25** | **21,60** | **0,00** | **0,00** | **7,55** | **11,92** | **2,11** | **0,28** | **0,01** | - |
| | 3,76 | 3,70 | 6,65 | 16,87 | 9,28 | 7,59 | 32,01 | 0,00 | 0,00 | 28,56 | 17,71 | 21,72 | 1,62 | 0,06 | ND |
| **18** | 3,81 | 3,75 | 6,65 | 16,85 | 9,59 | 7,26 | 30,07 | 0,00 | 0,00 | 29,55 | 19,24 | 21,14 | 1,52 | 0,06 | ND |
| **Média** | **3,79** | **3,73** | **6,65** | **16,86** | **9,44** | **7,43** | **31,04** | **0,00** | **0,00** | **29,06** | **18,48** | **21,43** | **1,57** | **0,06** | - |
| **Desvio** | **0,04** | **0,04** | **0,00** | **0,01** | **0,22** | **0,23** | **1,38** | **0,00** | **0,00** | **0,70** | **1,08** | **0,41** | **0,07** | **0,00** | - |
| | 4,38 | 4,32 | 6,65 | 9,28 | 8,36 | 0,92 | 34,86 | 0,00 | 0,00 | 27,41 | 16,77 | 21,55 | 1,41 | 0,06 | ND |
| **19** | 4,24 | 4,18 | 6,65 | 9,59 | 7,07 | 2,53 | 28,42 | 15,75 | 0,00 | 28,33 | 17,71 | 9,79 | 1,50 | 0,06 | ND |
| **Média** | **4,31** | **4,25** | **6,65** | **9,44** | **7,71** | **1,72** | **31,64** | **7,88** | **0,00** | **27,87** | **17,24** | **15,67** | **1,46** | **0,06** | - |
| **Desvio** | **0,10** | **0,10** | **0,00** | **0,22** | **0,91** | **1,13** | **4,55** | **11,14** | **0,00** | **0,65** | **0,66** | **8,32** | **0,06** | **0,00** | - |
| | 4,78 | 4,69 | 6,29 | 8,36 | 4,50 | 3,86 | 28,44 | 9,06 | 0,00 | 25,22 | 17,20 | 20,08 | 1,79 | 0,09 | ND |
| **20** | 4,74 | 4,65 | 6,29 | 7,07 | 4,35 | 2,72 | 26,98 | 0,00 | 0,00 | 24,86 | 20,81 | 27,35 | 1,84 | 0,09 | ND |
| **Média** | **4,76** | **4,67** | **6,29** | **7,71** | **4,42** | **3,29** | **27,71** | **4,53** | **0,00** | **25,04** | **19,01** | **23,72** | **1,82** | **0,09** | - |
| **Desvio** | **0,03** | **0,03** | **0,00** | **0,91** | **0,10** | **0,81** | **1,03** | **6,41** | **0,00** | **0,25** | **2,55** | **5,14** | **0,04** | **0,00** | - |
| | 4,83 | 4,71 | 6,48 | 17,00 | 15,77 | 1,23 | 19,87 | 10,15 | 0,00 | 21,15 | 22,93 | 25,91 | 2,42 | 0,12 | ND |
| **21** | 4,50 | 4,40 | 6,48 | 17,00 | 16,12 | 0,88 | 21,96 | 0,00 | 0,00 | 21,01 | 18,75 | 38,28 | 2,33 | 0,10 | ND |
| **Média** | **4,67** | **4,55** | **6,48** | **17,00** | **15,95** | **1,05** | **20,91** | **5,08** | **0,00** | **21,08** | **20,84** | **32,10** | **2,38** | **0,11** | - |
| **Desvio** | **0,23** | **0,22** | **0,00** | **0,00** | **0,25** | **0,25** | **1,48** | **7,18** | **0,00** | **0,10** | **2,96** | **8,75** | **0,06** | **0,01** | - |

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 g/L de $(NH_4)_2SO_4$ em Reator I (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| TEMPO | g/L | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 5,56 | 5,19 | 6,41 | 15,77 | 9,67 | 6,10 | 10,13 | 0,00 | 0,00 | 12,90 | 13,86 | 63,11 | 6,67 | 0,37 | ND |
| **23** | 5,77 | 5,65 | 6,41 | 16,12 | 9,60 | 6,52 | 25,19 | 0,00 | 0,00 | 31,52 | 18,85 | 24,44 | 2,15 | 0,12 | ND |
| **Média** | **5,67** | **5,42** | **6,41** | **15,95** | **9,64** | **6,31** | **17,66** | **0,00** | **0,00** | **22,21** | **16,36** | **43,78** | **4,41** | **0,25** | - |
| **Desvio** | **0,15** | **0,32** | **0,00** | **0,25** | **0,05** | **0,29** | **10,65** | **0,00** | **0,00** | **13,17** | **3,53** | **27,34** | **3,20** | **0,17** | - |
| | 5,12 | 4,72 | 6,39 | 9,67 | 8,29 | 1,38 | 9,29 | 0,00 | 0,00 | 26,82 | 48,47 | 15,43 | 7,79 | 0,40 | ND |
| **24** | 5,07 | 4,94 | 6,39 | 9,60 | 8,25 | 1,35 | 19,57 | 0,00 | 0,00 | 47,23 | 24,85 | 8,35 | 2,63 | 0,13 | ND |
| **Média** | **5,10** | **4,83** | **6,39** | **9,64** | **8,27** | **1,37** | **14,43** | **0,00** | **0,00** | **37,03** | **36,66** | **11,89** | **5,21** | **0,27** | - |
| **Desvio** | **0,04** | **0,15** | **0,00** | **0,05** | **0,03** | **0,02** | **7,27** | **0,00** | **0,00** | **14,43** | **16,70** | **5,01** | **3,65** | **0,19** | - |
| | 6,13 | 5,55 | 6,38 | 8,29 | 5,53 | 2,76 | 0,00 | 3,85 | 0,00 | 42,01 | 11,95 | 42,19 | 9,51 | 0,58 | ND |
| **26** | 6,24 | 5,95 | 6,38 | 8,25 | 5,46 | 2,79 | 10,87 | 5,43 | 5,52 | 52,68 | 17,61 | 7,89 | 4,63 | 0,29 | ND |
| **Média** | **6,19** | **5,75** | **6,38** | **8,27** | **5,49** | **2,78** | **5,44** | **4,64** | **2,76** | **47,35** | **14,78** | **25,04** | **7,07** | **0,44** | - |
| **Desvio** | **0,08** | **0,29** | **0,00** | **0,03** | **0,05** | **0,02** | **7,69** | **1,12** | **3,90** | **7,54** | **4,00** | **24,25** | **3,45** | **0,21** | - |
| | 5,52 | 5,22 | 6,5 | 18,29 | 14,22 | 4,07 | 6,23 | 5,08 | 6,13 | 58,89 | 12,75 | 10,92 | 5,43 | 0,30 | ND |
| **28** | 5,62 | 5,31 | 6,5 | 18,26 | 14,24 | 4,01 | 6,19 | 4,91 | 6,08 | 60,44 | 14,33 | 8,05 | 5,49 | 0,31 | ND |
| **Média** | **5,57** | **5,27** | **6,50** | **18,27** | **14,23** | **4,04** | **6,21** | **5,00** | **6,11** | **59,67** | **13,54** | **9,49** | **5,46** | **0,30** | - |
| **Desvio** | **0,07** | **0,06** | **0,00** | **0,02** | **0,01** | **0,04** | **0,03** | **0,12** | **0,04** | **1,10** | **1,12** | **2,03** | **0,04** | **0,01** | - |
| | 6,28 | 5,90 | 5,9 | 14,22 | 12,67 | 1,56 | 4,70 | 3,44 | 5,50 | 57,07 | 19,18 | 10,11 | 6,06 | 0,38 | ND |
| **30** | 5,77 | 5,42 | 5,9 | 14,24 | 12,32 | 1,92 | 0,00 | 4,63 | 6,42 | 61,33 | 17,75 | 9,87 | 6,04 | 0,35 | ND |
| **Média** | **6,03** | **5,66** | **5,90** | **14,23** | **12,50** | **1,74** | **2,35** | **4,04** | **5,96** | **59,20** | **18,47** | **9,99** | **6,05** | **0,36** | - |
| **Desvio** | **0,36** | **0,34** | **0,00** | **0,01** | **0,24** | **0,26** | **3,32** | **0,84** | **0,65** | **3,01** | **1,01** | **0,17** | **0,01** | **0,02** | - |
| | 5,96 | 5,49 | 6,52 | 12,67 | 11,39 | 1,28 | 5,97 | 0,00 | 6,25 | 60,20 | 16,72 | 10,86 | 7,83 | 0,47 | ND |
| **32** | 5,87 | 5,47 | 6,52 | 12,32 | 11,34 | 0,98 | 6,06 | 0,00 | 6,68 | 61,68 | 15,82 | 9,76 | 6,85 | 0,40 | ND |
| **Média** | **5,92** | **5,48** | **6,52** | **12,50** | **11,37** | **1,13** | **6,02** | **0,00** | **6,47** | **60,94** | **16,27** | **10,31** | **7,34** | **0,43** | - |
| **Desvio** | **0,06** | **0,02** | **0,00** | **0,24** | **0,03** | **0,21** | **0,06** | **0,00** | **0,30** | **1,05** | **0,64** | **0,78** | **0,69** | **0,05** | - |
| | 4,84 | 4,39 | 6,54 | 16,43 | 13,25 | 3,17 | 3,26 | 1,55 | 8,33 | 63,83 | 13,31 | 9,72 | 9,39 | 0,45 | ND |
| **42** | 4,94 | 4,49 | 6,54 | 16,36 | 13,33 | 3,03 | 3,30 | 3,71 | 8,03 | 62,36 | 13,30 | 9,30 | 9,14 | 0,45 | ND |
| **Média** | **4,89** | **4,44** | **6,54** | **16,39** | **13,29** | **3,10** | **3,28** | **2,63** | **8,18** | **63,10** | **13,31** | **9,51** | **9,26** | **0,45** | - |
| **Desvio** | **0,07** | **0,07** | **0,00** | **0,05** | **0,06** | **0,11** | **0,03** | **1,53** | **0,22** | **1,04** | **0,00** | **0,30** | **0,18** | **0,00** | - |

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 g/L de $(NH_4)_2SO_4$ em Reator I (Conclusão)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| TEMPO | g/L | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 4,89 | 4,43 | 6,56 | 13,25 | 12,40 | 0,85 | 0,46 | 1,61 | 9,21 | 62,58 | 14,98 | 11,15 | 9,41 | 0,46 | ND |
| **44** | 5,02 | 4,56 | 6,56 | 13,33 | 12,34 | 0,99 | 3,07 | 1,48 | 8,35 | 62,51 | 13,85 | 10,74 | 9,25 | 0,46 | ND |
| **Média** | **4,96** | **4,49** | **6,56** | **13,29** | **12,37** | **0,92** | **1,77** | **1,55** | **8,78** | **62,55** | **14,42** | **10,95** | **9,33** | **0,46** | **-** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,09** | **0,00** | **0,06** | **0,04** | **0,10** | **1,85** | **0,09** | **0,61** | **0,05** | **0,80** | **0,29** | **0,11** | **0,00** | - |
| | 3,80 | 3,80 | 6,6 | 12,40 | 12,25 | 0,15 | 2,95 | 3,25 | 8,44 | 59,09 | 15,31 | 10,95 | 10,78 | 0,00 | ND |
| **46** | 4,18 | 4,18 | 6,6 | 12,34 | 12,23 | 0,11 | 3,15 | 3,48 | 8,85 | 60,07 | 13,87 | 10,58 | 10,06 | 0,00 | ND |
| **Média** | **3,99** | **3,99** | **6,60** | **12,37** | **12,24** | **0,13** | **3,05** | **3,37** | **8,64** | **59,58** | **14,59** | **10,77** | **10,42** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,27** | **0,27** | **0,00** | **0,04** | **0,01** | **0,03** | **0,15** | **0,16** | **0,29** | **0,69** | **1,02** | **0,27** | **0,51** | **0,00** | - |
| | 4,74 | 4,24 | 6,65 | 12,42 | 12,40 | 0,02 | 2,78 | 3,23 | 8,93 | 59,94 | 13,45 | 11,67 | 10,58 | 0,50 | ND |
| **48,5** | 4,76 | 4,29 | 6,65 | 12,38 | 12,34 | 0,04 | 0,33 | 3,42 | 9,41 | 63,18 | 12,57 | 11,08 | 9,93 | 0,47 | ND |
| **Média** | **4,75** | **4,26** | **6,65** | **12,40** | **12,37** | **0,03** | **1,55** | **3,33** | **9,17** | **61,56** | **13,01** | **11,38** | **10,25** | **0,49** | - |
| **Desvio** | **0,01** | **0,03** | **0,00** | **0,03** | **0,04** | **0,01** | **1,73** | **0,13** | **0,34** | **2,29** | **0,62** | **0,42** | **0,46** | **0,02** | - |
| | 4,55 | 4,08 | 6,67 | 12,40 | 10,97 | 1,43 | 2,69 | 2,55 | 9,14 | 60,41 | 14,24 | 10,98 | 10,43 | 0,47 | ND |
| **50** | 4,20 | 3,78 | 6,67 | 12,34 | 10,96 | 1,38 | 2,72 | 3,43 | 9,01 | 60,19 | 14,21 | 10,44 | 10,09 | 0,42 | ND |
| **Média** | **4,38** | **3,93** | **6,67** | **12,37** | **10,97** | **1,40** | **2,71** | **2,99** | **9,08** | **60,30** | **14,22** | **10,71** | **10,26** | **0,45** | - |
| **Desvio** | **0,25** | **0,21** | **0,00** | **0,04** | **0,01** | **0,03** | **0,03** | **0,62** | **0,10** | **0,15** | **0,02** | **0,38** | **0,24** | **0,04** | - |
| | 5,79 | 5,19 | 6,69 | 10,97 | 6,62 | 4,35 | 2,40 | 3,29 | 11,26 | 58,36 | 13,43 | 11,25 | 10,33 | 0,60 | ND |
| **68,5** | 4,87 | 4,40 | 6,69 | 10,96 | 6,55 | 4,41 | 2,70 | 3,80 | 11,03 | 57,57 | 13,98 | 10,92 | 9,56 | 0,47 | ND |
| **Média** | **5,33** | **4,80** | **6,69** | **10,97** | **6,59** | **4,38** | **2,55** | **3,55** | **11,15** | **57,97** | **13,70** | **11,09** | **9,94** | **0,53** | - |
| **Desvio** | **0,65** | **0,56** | **0,00** | **0,01** | **0,05** | **0,04** | **0,21** | **0,36** | **0,16** | **0,56** | **0,39** | **0,23** | **0,55** | **0,09** | - |
| | 4,71 | 4,19 | 6,72 | 6,62 | 4,97 | 1,65 | 2,58 | 3,69 | 11,52 | 57,44 | 13,87 | 10,90 | 10,96 | 0,52 | ND |
| **71,5** | 4,75 | 4,24 | 6,72 | 6,55 | 4,95 | 1,60 | 0,40 | 3,83 | 11,20 | 58,31 | 15,02 | 11,24 | 10,80 | 0,51 | ND |
| **Média** | **4,73** | **4,22** | **6,72** | **6,59** | **4,96** | **1,63** | **1,49** | **3,76** | **11,36** | **57,88** | **14,45** | **11,07** | **10,88** | **0,51** | - |
| **Desvio** | **0,03** | **0,03** | **0,00** | **0,05** | **0,02** | **0,03** | **1,54** | **0,10** | **0,23** | **0,61** | **0,81** | **0,24** | **0,11** | **0,00** | **-** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · XPHA - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos· pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. ND - Não determinado.

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 g/L de $(NH_4)_2SO_4$ em Reator II (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| TEMPO | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 0,28 | 0,28 | 6,95 | 12,77 | 12,66 | 0,11 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 0 | 0,24 | 0,24 | 7,09 | 12,77 | 12,64 | 0,13 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,26** | **0,26** | **7,02** | **12,65** | **0,12** | **0,12** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,03** | **0,03** | **0,10** | **0,02** | **0,01** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 0,34 | 0,34 | 6,94 | 12,66 | 12,27 | 0,39 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 2 | 0,33 | 0,33 | 7 | 12,64 | 12,36 | 0,27 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,34** | **0,34** | **6,97** | **12,65** | **12,32** | **0,33** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,01** | **0,01** | **0,04** | **0,02** | **0,07** | **0,08** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 0,45 | 0,45 | 6,96 | 12,27 | 11,57 | 0,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 4 | 0,54 | 0,54 | 6,99 | 12,27 | 11,25 | 1,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,50** | **0,50** | **6,98** | **12,27** | **11,41** | **0,86** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,06** | **0,06** | **0,02** | **0,00** | **0,23** | **0,23** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 0,85 | 0,85 | 6,94 | 11,57 | 10,53 | 1,04 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| 6 | 0,83 | 0,83 | 6,95 | 11,25 | 10,72 | 0,53 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | ND |
| **Média** | **0,84** | **0,84** | **6,95** | **11,41** | **10,63** | **0,78** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| **Desvio** | **0,01** | **0,01** | **0,01** | **0,23** | **0,14** | **0,36** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | - |
| | 1,06 | 1,04 | 6,95 | 10,53 | 9,52 | 1,01 | 13,58 | 17,13 | 2,48 | 0,00 | 0,00 | 62,97 | 1,43 | 0,02 | ND |
| 8 | 1,20 | 1,18 | 6,94 | 10,72 | 9,52 | 1,20 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 77,73 | 1,37 | 0,02 | ND |
| **Média** | **1,13** | **1,11** | **6,95** | **10,63** | **9,52** | **1,11** | **6,79** | **8,57** | **1,24** | **0,00** | **0,00** | **70,35** | **1,40** | **0,02** | - |
| **Desvio** | **0,10** | **0,10** | **0,01** | **0,14** | **0,00** | **0,14** | **9,61** | **12,11** | **1,75** | **0,00** | **0,00** | **10,44** | **0,04** | **0,00** | - |
| | 1,24 | 1,23 | 6,94 | 9,52 | 7,59 | 1,93 | 0,00 | 0,00 | 5,17 | 0,00 | 24,66 | 70,17 | 0,77 | 0,01 | ND |
| 10 | 1,30 | 1,27 | 6,9 | 9,52 | 7,59 | 1,93 | 12,15 | 4,13 | 0,00 | 16,60 | 3,69 | 63,44 | 2,68 | 0,03 | ND |
| **Média** | **1,27** | **1,25** | **6,92** | **9,52** | **7,59** | **1,93** | **6,08** | **2,07** | **2,59** | **8,30** | **14,18** | **66,81** | **1,73** | **0,02** | - |
| **Desvio** | **0,04** | **0,02** | **0,03** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **8,59** | **2,92** | **3,66** | **11,74** | **14,83** | **4,76** | **1,34** | **0,02** | - |

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 g/L de $(NH_4)_2SO_4$ em Reator II (Continua)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| TEMPO | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 2,25 | 2,19 | 6,94 | 7,59 | 5,87 | 1,72 | 12,32 | 9,61 | 1,39 | 16,24 | 9,99 | 50,46 | 2,83 | 0,06 | ND |
| 13 | 2,10 | 2,03 | 6,83 | 7,59 | 5,87 | 1,72 | 11,23 | 2,71 | 1,12 | 14,58 | 15,27 | 55,09 | 3,41 | 0,07 | ND |
| **Média** | **2,18** | **2,11** | **6,89** | **7,59** | **5,87** | **1,72** | **11,78** | **6,16** | **1,25** | **15,41** | **12,63** | **52,77** | **3,12** | **0,07** | - |
| **Desvio** | **0,11** | **0,11** | **0,08** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,77** | **4,88** | **0,19** | **1,17** | **3,74** | **3,27** | **0,41** | **0,01** | - |
| | 3,38 | 3,35 | 6,93 | 5,87 | 4,93 | 0,94 | 8,11 | 23,02 | 3,28 | 49,82 | 7,77 | 8,01 | 0,82 | 0,03 | ND |
| 16 | 3,32 | 3,20 | 6,92 | 5,87 | 4,93 | 0,94 | 7,40 | 1,80 | 1,33 | 13,31 | 5,93 | 70,23 | 3,48 | 0,12 | ND |
| **Média** | **3,35** | **3,28** | **6,93** | **5,87** | **4,93** | **0,94** | **7,76** | **12,41** | **2,31** | **31,56** | **6,85** | **39,12** | **2,15** | **0,07** | - |
| **Desvio** | **0,04** | **0,10** | **0,01** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,50** | **15,00** | **1,38** | **25,82** | **1,30** | **43,99** | **1,88** | **0,06** | - |
| | 4,73 | 4,55 | 6,93 | 14,04 | 12,80 | 1,24 | 11,18 | 2,86 | 0,00 | 11,47 | 4,79 | 69,69 | 3,90 | 0,18 | ND |
| 19 | 4,90 | 4,73 | 6,84 | 14,04 | 12,80 | 1,24 | 9,06 | 4,43 | 0,84 | 15,07 | 15,85 | 54,75 | 3,55 | 0,17 | ND |
| **Média** | **4,82** | **4,64** | **6,89** | **14,04** | **12,80** | **1,24** | **10,12** | **3,65** | **0,42** | **13,27** | **10,32** | **62,22** | **3,72** | **0,18** | - |
| **Desvio** | **0,12** | **0,13** | **0,06** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **1,50** | **1,11** | **0,60** | **2,54** | **7,82** | **10,57** | **0,25** | **0,01** | - |
| | 5,81 | 5,61 | 6,92 | 12,80 | 8,94 | 3,86 | 8,86 | 1,46 | 0,79 | 39,63 | 37,05 | 12,20 | 3,43 | 0,20 | ND |
| 22 | 5,29 | 5,12 | 6,74 | 12,80 | 8,94 | 3,86 | 1,39 | 2,09 | 5,19 | 38,48 | 41,48 | 11,37 | 3,21 | 0,17 | ND |
| **Média** | **5,55** | **5,37** | **6,83** | **12,80** | **8,94** | **3,86** | **5,13** | **1,78** | **2,99** | **39,06** | **39,26** | **11,79** | **3,32** | **0,18** | - |
| **Desvio** | **0,37** | **0,35** | **0,13** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **5,28** | **0,45** | **3,11** | **0,81** | **3,13** | **0,59** | **0,15** | **0,02** | - |
| | 5,71 | 5,41 | 6,94 | 8,94 | 6,79 | 2,15 | 3,29 | 4,41 | 3,53 | 49,00 | 25,90 | 13,86 | 5,23 | 0,30 | ND |
| 24 | 6,95 | 6,37 | 6,78 | 8,94 | 6,79 | 2,15 | 4,83 | 2,26 | 5,49 | 55,65 | 19,20 | 12,57 | 8,37 | 0,58 | ND |
| **Média** | **6,33** | **5,89** | **6,86** | **8,94** | **6,79** | **2,15** | **4,06** | **3,34** | **4,51** | **52,33** | **22,55** | **13,22** | **6,80** | **0,44** | - |
| **Desvio** | **0,88** | **0,68** | **0,11** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **1,08** | **1,52** | **1,38** | **4,71** | **4,74** | **0,91** | **2,22** | **0,20** | - |
| | 6,19 | 5,71 | 6,93 | 6,79 | 5,69 | 1,10 | 4,48 | 1,09 | 5,10 | 59,38 | 17,82 | 12,13 | 7,73 | 0,48 | ND |
| 27h15 | 6,40 | 6,08 | 6,7 | 6,79 | 5,69 | 1,10 | 7,66 | 3,51 | 3,89 | 51,92 | 22,11 | 10,90 | 5,07 | 0,32 | ND |
| **Média** | **6,30** | **5,89** | **6,82** | **6,79** | **5,69** | **1,10** | **6,07** | **2,30** | **4,49** | **55,65** | **19,97** | **11,52** | **6,40** | **0,40** | - |
| **Desvio** | **0,15** | **0,26** | **0,16** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **2,25** | **1,71** | **0,86** | **5,27** | **3,03** | **0,86** | **1,87** | **0,11** | - |
| | 5,76 | 5,18 | 6,95 | 5,69 | 1,17 | 4,52 | 3,89 | 0,77 | 5,49 | 60,85 | 16,79 | 12,20 | 10,04 | 0,58 | ND |
| 30h15 | 6,46 | 5,84 | 6,71 | 5,69 | 1,17 | 4,52 | 3,65 | 2,20 | 5,96 | 59,58 | 16,29 | 12,32 | 9,61 | 0,62 | ND |
| **Média** | **6,11** | **5,51** | **6,83** | **5,69** | **1,17** | **4,52** | **3,77** | **1,49** | **5,73** | **60,21** | **16,54** | **12,26** | **9,82** | **0,60** | - |
| **Desvio** | **0,49** | **0,46** | **0,17** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,17** | **1,01** | **0,33** | **0,90** | **0,35** | **0,08** | **0,30** | **0,03** | - |

**APÊNDICE A** - Produção polihidroxialcanoatos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 g/L de $(NH_4)_2SO_4$ em Reator II (Conclusão)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| TEMPO | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 6,13 | 5,37 | 6,97 | 12,80 | 10,06 | 2,74 | 1,68 | 1,03 | 7,66 | 63,01 | 14,22 | 12,39 | 12,46 | 0,76 | ND |
| **43h45** | 5,91 | 5,16 | 6,81 | 12,80 | 10,06 | 2,74 | 2,82 | 1,88 | 6,97 | 61,62 | 14,45 | 12,25 | 12,66 | 0,75 | ND |
| **Média** | **6,02** | **5,26** | **6,89** | **12,80** | **10,06** | **2,74** | **2,25** | **1,46** | **7,32** | **62,32** | **14,33** | **12,32** | **12,56** | **0,76** | - |
| **Desvio** | **0,16** | **0,14** | **0,11** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **0,81** | **0,60** | **0,49** | **0,99** | **0,17** | **0,10** | **0,14** | **0,01** | - |
| | 5,85 | 5,04 | 6,93 | 10,06 | 9,37 | 0,69 | 2,21 | 1,98 | 7,92 | 60,51 | 15,20 | 12,19 | 13,87 | 0,81 | ND |
| **50** | 5,83 | 5,14 | 6,81 | 10,06 | 9,37 | 0,69 | 0,00 | 3,17 | 8,09 | 67,46 | 10,39 | 10,88 | 11,89 | 0,69 | ND |
| **Média** | **5,84** | **5,09** | **6,87** | **10,06** | **9,37** | **0,69** | **1,10** | **2,58** | **8,01** | **63,98** | **12,80** | **11,54** | **12,88** | **0,75** | - |
| **Desvio** | **0,01** | **0,07** | **0,08** | **0,00** | **0,00** | **0,00** | **1,56** | **0,85** | **0,12** | **4,91** | **3,39** | **0,93** | **1,39** | **0,08** | - |
| | 5,55 | 4,69 | 6,95 | 9,37 | 8,26 | 1,11 | 2,31 | 1,90 | 8,04 | 60,68 | 14,33 | 12,74 | 15,42 | 0,86 | ND |
| **53** | 5,67 | 5,00 | 6,74 | 9,37 | 8,39 | 0,98 | 2,70 | 2,01 | 8,41 | 61,10 | 13,38 | 12,40 | 11,75 | 0,67 | ND |
| **Média** | **5,61** | **4,85** | **6,85** | **9,37** | **8,32** | **1,05** | **2,51** | **1,96** | **8,22** | **60,89** | **13,86** | **12,57** | **13,59** | **0,76** | - |
| **Desvio** | **0,08** | **0,22** | **0,15** | **0,00** | **0,09** | **0,09** | **0,28** | **0,07** | **0,26** | **0,30** | **0,67** | **0,24** | **2,59** | **0,13** | - |
| | 3,90 | 3,40 | 6,94 | 8,26 | 6,80 | 1,46 | 3,79 | 1,95 | 10,04 | 54,97 | 14,59 | 14,66 | 12,80 | 0,50 | ND |
| **68** | 4,90 | 4,27 | 6,66 | 8,39 | 6,68 | 1,71 | 2,12 | 2,99 | 10,17 | 54,26 | 14,41 | 16,05 | 12,84 | 0,63 | ND |
| **Média** | **4,40** | **3,84** | **6,80** | **8,32** | **6,74** | **1,58** | **2,96** | **2,47** | **10,11** | **54,62** | **14,50** | **15,36** | **12,82** | **0,56** | - |
| **Desvio** | **0,71** | **0,62** | **0,20** | **0,09** | **0,08** | **0,18** | **1,18** | **0,74** | **0,09** | **0,50** | **0,13** | **0,98** | **0,03** | **0,09** | - |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · XPHA - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos· pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. ND - Não determinado.

**APÊNDICE A** - Clones obtidos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 de $(NH_4)_2SO_4$ após inserção dos genes xylAB

(Continua)

| ISOLADO | MSC (g/L) | $X_R$ (g/L) | pH | Xilose (g/L) INICIAL | FINAL | CONS. | Composição PHA Mol% 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | PHA (%MSC) | PHA (g/L) | $Y_{Max\%}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3,01 | 2,71 | 6,37 | 20,20 | 4,93 | 15,27 | 3,27 | 2,21 | 9,69 | 71,74 | 0,86 | 12,22 | 10,14 | 0,31 | ND |
| **SCU 164 WILD** | 3,43 | 3,13 | 4,72 | 20,20 | 5,29 | 14,92 | 3,37 | 1,76 | 8,55 | 84,71 | 0,11 | 1,50 | 8,57 | 0,29 | ND |
| | 2,93 | 2,67 | 4,82 | 20,20 | 4,05 | 16,15 | 3,25 | 2,36 | 1,21 | 78,87 | 0,98 | 13,33 | 8,82 | 0,26 | ND |
| **Média** | **3,12** | **2,84** | **5,30** | **20,20** | **4,76** | **15,45** | **3,30** | **2,11** | **6,49** | **78,44** | **0,65** | **9,02** | **9,18** | **0,29** | **-** |
| **Desvio** | **0,26** | **0,26** | **0,93** | **0,00** | **0,64** | **0,64** | **0,06** | **0,31** | **4,60** | **6,49** | **0,47** | **6,53** | **0,85** | **0,02** | **-** |
| | 2,70 | 2,49 | 4,86 | 16,27 | 6,27 | 10,00 | 4,24 | 1,96 | 5,82 | 50,50 | 20,37 | 17,12 | 7,74 | 0,21 | ND |
| **SCU 164 xylAB A** | 3,08 | 2,85 | 4,87 | 16,27 | 7,56 | 8,71 | 4,58 | 2,00 | 5,33 | 49,84 | 19,30 | 18,94 | 7,4 | 0,23 | ND |
| | 3,09 | 2,88 | 4,8 | 16,27 | 7,56 | 8,71 | 3,78 | 2,40 | 5,87 | 51,48 | 22,02 | 14,45 | 6,49 | 0,20 | ND |
| **Média** | **2,95** | **2,74** | **4,84** | **16,27** | **7,13** | **9,14** | **4,20** | **2,12** | **5,68** | **50,61** | **20,56** | **16,84** | **7,21** | **0,21** | **-** |
| **Desvio** | **0,22** | **0,22** | **0,04** | **0,00** | **0,74** | **0,74** | **0,40** | **0,24** | **0,30** | **0,83** | **1,37** | **2,26** | **0,65** | **0,01** | **-** |
| | 2,97 | 2,79 | 4,80 | 16,27 | 7,62 | 8,65 | 0,00 | 0,00 | 5,27 | 56,92 | 23,72 | 14,09 | 6,14 | 0,18 | ND |
| **SCU 164 xylAB B** | 3,08 | 2,91 | 4,78 | 16,27 | 7,62 | 8,65 | 0,00 | 4,90 | 7,23 | 51,96 | 24,33 | 11,57 | 5,37 | 0,17 | ND |
| | 2,90 | 2,69 | 4,74 | 16,27 | 7,25 | 9,01 | 0,00 | 2,28 | 5,59 | 57,02 | 20,81 | 14,30 | 7,26 | 0,21 | ND |
| **Média** | **2,99** | **2,80** | **4,77** | **16,27** | **7,50** | **8,77** | **0,00** | **2,39** | **6,03** | **55,30** | **22,95** | **13,32** | **6,26** | **0,19** | **-** |
| **Desvio** | **0,09** | **0,11** | **0,03** | **0,00** | **0,21** | **0,21** | **0,00** | **2,45** | **1,05** | **2,89** | **1,88** | **1,52** | **0,95** | **0,02** | **-** |
| | 4,00 | 3,77 | 4,83 | 16,27 | 7,06 | 9,21 | 0,00 | 3,40 | 6,91 | 59,57 | 3,85 | 26,28 | 5,62 | 0,22 | ND |
| **SCU 164 xylAB C** | 2,33 | 2,20 | 4,70 | 16,27 | 7,56 | 8,70 | 6,35 | 0,00 | 6,02 | 53,23 | 22,53 | 11,88 | 5,85 | 0,14 | ND |
| | 2,86 | 2,65 | 4,68 | 16,27 | 7,20 | 9,07 | 4,75 | 1,51 | 5,58 | 52,88 | 21,77 | 13,51 | 7,26 | 0,21 | ND |
| **Média** | **3,06** | **2,87** | **4,74** | **16,27** | **7,27** | **8,99** | **3,70** | **1,64** | **6,17** | **55,23** | **16,05** | **17,22** | **6,24** | **0,19** | **-** |
| **Desvio** | **0,85** | **0,81** | **0,08** | **0,00** | **0,26** | **0,26** | **3,30** | **1,70** | **0,68** | **3,77** | **10,57** | **7,89** | **0,89** | **0,05** | **-** |
| | 2,97 | 2,76 | 4,80 | 16,27 | 6,87 | 9,40 | 3,63 | 2,00 | 7,97 | 51,82 | 20,55 | 14,03 | 7,13 | 0,21 | ND |
| **SCU 164 xylAB D** | 3,21 | 3,03 | 4,83 | 16,27 | 7,48 | 8,79 | 5,35 | 0,00 | 5,08 | 54,00 | 22,93 | 12,64 | 5,65 | 0,18 | ND |
| | 3,21 | 2,99 | 4,86 | 16,27 | 6,94 | 9,33 | 3,73 | 2,08 | 6,58 | 53,61 | 20,56 | 13,43 | 6,97 | 0,22 | ND |
| **Média** | **3,13** | **2,93** | **4,83** | **16,27** | **7,09** | **9,17** | **4,24** | **1,36** | **6,54** | **53,14** | **21,35** | **13,37** | **6,58** | **0,21** | **-** |
| **Desvio** | **0,14** | **0,15** | **0,03** | **0,00** | **0,33** | **0,33** | **0,97** | **1,18** | **1,45** | **1,16** | **1,37** | **0,70** | **0,81** | **0,02** | **-** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · XPHA - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos· pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. ND - Não determinado.

**APÊNDICE A** - Clones obtidos do isolado SCU 164 a partir de Xilose (15 g/L) e 1,0 de $(NH_4)_2SO_4$ após inserção dos genes xylAB

(Conclusão)

| | | | | | | | Polihidroxialcanoatos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MSC | $X_R$ | pH | Xilose (g/L) | | | Composição PHA Mol% | | | | | | PHA | PHA | $Y_{Max\%}$ |
| ISOLADO | (g/L) | (g/L) | | INICIAL | FINAL | CONS. | 3HB | 3HHx | 3HO | 3HD | 3HDd | 3HDdΔ5 | (%MSC) | (g/L) | |
| | 3,02 | 2,83 | 4,85 | 16,27 | 7,48 | 8,79 | 0,00 | 0,00 | 5,85 | 56,28 | 23,20 | 14,67 | 6,31 | 0,19 | ND |
| **SCU 164 xylAB E** | 2,88 | 2,70 | 4,74 | 16,27 | 8,10 | 8,16 | 3,70 | 1,86 | 5,95 | 54,20 | 21,18 | 13,01 | 6,34 | 0,18 | ND |
| | 2,94 | 2,72 | 4,68 | 16,27 | 7,74 | 8,53 | 5,23 | 0,00 | 6,85 | 53,12 | 21,13 | 13,67 | 7,24 | 0,21 | ND |
| **Média** | **2,95** | **2,75** | **4,76** | **16,27** | **7,77** | **8,49** | **2,98** | **0,62** | **6,22** | **54,53** | **21,84** | **13,78** | **6,63** | **0,20** | **-** |
| **Desvio** | **0,07** | **0,07** | **0,09** | **0,00** | **0,31** | **0,31** | **2,69** | **1,07** | **0,55** | **1,61** | **1,18** | **0,84** | **0,53** | **0,02** | **-** |

MSC – Massa seca celular · 3HB - 3-hidroxibutirato · 3HHx – 3-hidroxihexanoato · 3HO – 3-hidroxioctanoato · 3HD – 3-hidroxidecanoato · 3HDd – 3-hidroxidodecanoato. 3HDdΔ5 - 3-hidroxi-5-dodecenoato · Xr - Concentração celular residual · XPHA - Porção celular correspondente a polihidroxialcanoatos· pH do meio mineral mais fonte de carbono após 72h. %MSC - percentual da massa seca celular. YMax% - Percentual da eficiência máxima teórica. ND - Não determinado.

# APÊNDICE B

Múltiplo alinhamento de sequencias do rDNA 16S utilizando primer 27F dos isolados SCU 99, 101 e 164.

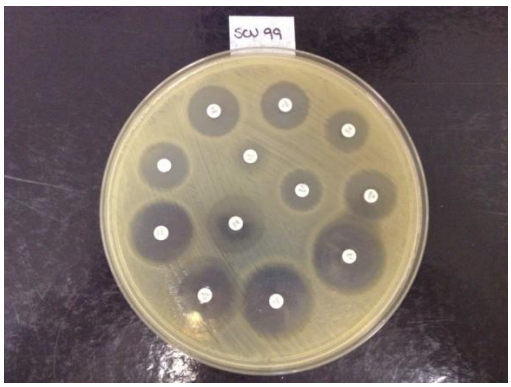
```
SCU99-27        TTCTGATTCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGC
SCU101-27       TTCTGATTCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGC
SCU164-27       TTCTGATTCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGC
                ******************************************************

SCU99-27        GATCCGGACTACGATCGGTTTTGTGAGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCTCTG
SCU101-27       GATCCGGACTACGATCGGTTTTGTGAGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCTCTG
SCU164-27       GATCCGGACTACGATCGGTTTTGTGAGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCTCTG
                ************************************************************

SCU99-27        TACCGACCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCA
SCU101-27       TACCGACCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCA
SCU164-27       TACCGACCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCA
                ************************************************************

SCU99-27        TCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAGTCTCCTTAGAGTGCCCACCATAACGTGCT
SCU101-27       TCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAGTCTCCTTAGAGTGCCCACCATAACGTGCT
SCU164-27       TCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAGTCTCCTTAGAGTGCCCACCATAACGTGCT
                ************************************************************

SCU99-27        GGTAACTAAGGACAAGGGTTGCGCTCGTTACGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGA
SCU101-27       GGTAACTAAGGACAAGGGTTGCGCTCGTTACGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGA
SCU164-27       GGTAACTAAGGACAAGGGTTGCGCTCGTTACGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGA
                ************************************************************

SCU99-27        GCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAATCTATCTCTAG
SCU101-27       GCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAATCTATCTCTAG
SCU164-27       GCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAATCTATCTCTAG
                ************************************************************

SCU99-27        AAAGTTCTCTGCATGTCAAGGCCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACA
SCU101-27       AAAGTTCTCTGCATGTCAAGGCCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACA
SCU164-27       AAAGTTCTCTGCATGTCAAGGCCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACA
                ************************************************************

SCU99-27        TGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTAC
SCU101-27       TGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTAC
SCU164-27       TGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTAC
                ************************************************************

SCU99-27        TCCCCAGGCGGTCAACTTAATGCGTTAGCTGCGCCACTAAAATCTCAAGGATTCCAACGG
SCU101-27       TCCCCAGGCGGTCAACTTAATGCGTTAGCTGCGCCACTAAAATCTCAAGGATTCCAACGG
SCU164-27       TCCCCAGGCGGTCAACTTAATGCGTTAGCTGCGCCACTAAAATCTCAAGGATTCCAACGG
                ************************************************************

SCU99-27        CTAGTTGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGC
SCU101-27       CTAGTTGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGC
SCU164-27       CTAGTTGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGC
                ************************************************************

SCU99-27        TTTCGCACCTCAGTGTCAGTATGAGCCCAG
SCU101-27       TTTCGCACCTCAGTGTCAGTATGAGCCCAG
SCU164-27       TTTCGCACCTCAGTGTCAGTATGAGCCCAG
                ******************************
```

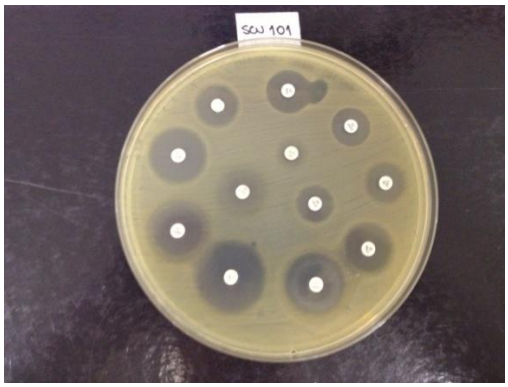
Múltiplo alinhamento de sequencias do rDNA 16S utilizando primer 1401R dos isolados SCU 99, 101 e 164.

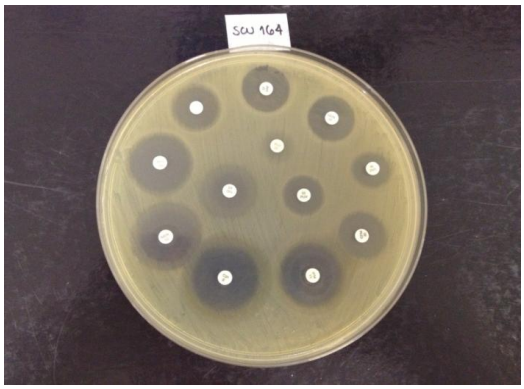
```
SCU101-1401      CATGCAGTCGAGCGGATGAGAAGAGCTTGCTCTTCGATTCAGCGGCG
SCU164-1401      CATGCAGTCGAGCGGATGAGAAGAGCTTGCTCTTCGATTCAGCGGCG
SCu99-1401       CATGCAGTCGAGCGGATGAGAAGAGCTTGCTCTTCGATTCAGCGGCG
                 ***********************************************

SCU101-1401      GACGGGTGAGTAATACCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAAC
SCU164-1401      GACGGGTGAGTAATACCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAAC
SCu99-1401       GACGGGTGAGTAATACCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAAC
                 ************************************************************

SCU101-1401      GCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAG
SCU164-1401      GCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAG
SCu99-1401       GCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAG
                 ************************************************************

SCU101-1401      ATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGT
SCU164-1401      ATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGT
SCu99-1401       ATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGT
                 ************************************************************

SCU101-1401      AACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGG
SCU164-1401      AACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGG
SCu99-1401       AACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGG
                 ************************************************************

SCU101-1401      GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGT
SCU164-1401      GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGT
SCu99-1401       GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGT
                 ************************************************************

SCU101-1401      GTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCATTAACCTAAT
SCU164-1401      GTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCATTAACCTAAT
SCu99-1401       GTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCATTAACCTAAT
                 ************************************************************

SCU101-1401      ACGTTAGTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCG
SCU164-1401      ACGTTAGTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCG
SCu99-1401       ACGTTAGTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCG
                 ************************************************************

SCU101-1401      CGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTG
SCU164-1401      CGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTG
SCu99-1401       CGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTG
                 ************************************************************

SCU101-1401      GTTTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAACTGGCA
SCU164-1401      GTTTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAACTGGCA
SCu99-1401       GTTTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAACTGGCA
                 ************************************************************

SCU101-1401      AGCTAGAGTAGGGCAGAGGTGGTGGAATTTCCTG
SCU164-1401      AGCTAGAGTAGGGCAGAGGTGGTGGAATTTCCTG
SCu99-1401       AGCTAGAGTAGGGCAGAGGTGGTGGAATTTCCTG
                 **********************************
```

# APÊNDICE C

Resultados obtidos após teste de difusão em ágar – Antibiograma, realizado nos isolados SCU 99, SCU 101 e SCU 164.




Nota: Os nomes dos antibióticos utilizados, bem com suas siglas estão discriminados no Quadro 2