

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

ANDRÉIA VIEIRA BARBOSA

**USO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE HIDROCARBONETOS PARA
PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMEROS- PHA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2017

ANDRÉIA VIEIRA BARBOSA

**USO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE HIDROCARBONETOS
PARA PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMEROS- PHA**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos do Departamento Acadêmico de Tecnologia em Alimentos – DAALM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Vitoria
Messias Bittencourt

Co-orientadora: Profa. Dra. Denise Milléo
Almeida

PONTA GROSSA

2017



TERMO DE APROVAÇÃO

USO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE HIDROCARBONETOS PARA PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMERO- PHA

Por

ANDRÉIA VIEIRA BARBOSA

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 19 de abril de 2017, como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. A candidata foi argüida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a Dra Juliana Vitória Messias Bittencourt
Profa. Orientadora.

Prof^a Dra Sabrina Ávila Rodrigues
Membro titular.

Mestra Cláudia Walus Stocco
Membro titular.

Dedico este trabalho aos meus filhos
e ao meu esposo, por todo
incentivo e apoio para realizá-lo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado saúde, força e energia para conseguir completar esta etapa de minha vida.

A Professora Dr^a. Juliana Vitoria Messias pela orientação, confiança e dedicação para a elaboração deste trabalho.

A Professora Dr^a. Denise Milléo Almeida pela co-orientação, confiança e dedicação para a elaboração deste trabalho.

Agradeço aos Meus Filhos pela compreensão da minha ausência e por sempre acreditarem no meu potencial.

Agradeço ao Meu Esposo Gerson Oliveira da Silva por todo seu amor, companheirismo, por me incentivar e nunca me deixar desistir.

Agradeço aos meus amigos de turma, por toda amizade e companheirismo em todos esses anos.

A todos que em algum momento fizeram parte da minha caminhada.

RESUMO

BARBOSA, A. V. **Uso de resíduos industriais de hidrocarbonetos para a produção de biopolímeros – PHA.** 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2017.

Os polihidroxicarboxilatos (PHAs) são poliésteres produzidos por diversos microorganismos que sintetizam e os acumulam na forma de grânulos intracelulares, desde que haja no meio de cultivo excesso de nutrientes e limitação de fonte de carbono. Biopolímeros são polissacarídeos de origem microbiana, também conhecidos como gomas, que têm a capacidade de formar géis e soluções viscosas em meio aquoso. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a produção de biopolímeros-PHA, a partir do uso de resíduos industriais de hidrocarbonetos, como óleo de motor, óleo de fritura e caldo do bagaço de cana. Nos experimentos foram verificadas a produção das células microbianas, cinética, potencial hidrogeniônico, acidez titulável, determinação da concentração de açúcares totais no fermentado, biomassa seca e extração de PHA, utilizou-se um planejamento experimental fatorial 2^3 , com três pontos centrais. Como resultado verificou-se que a *Sphingomonas spp.* submetida do meio fermentativo contendo 5 g L^{-1} de óleo vegetal de fritura e 5 g L^{-1} caldo de bagaço da cana obteve maior quantidade de PHA ao final de 192 h, com maior produtividade durante a fase logarítmica de crescimento. Novas pesquisas como as semelhantes a deste estudo são importantes, e a continuação deste trabalho seria interessante a fim de verificar a possível aplicação industrial do polímero produzido.

Palavras-chave: Polihidroxicarboxilatos (PHAs). Biopolímeros. *Sphingomonas spp.*

ABSTRACT

BARBOSA, A.V. **Use of industrial waste of hydrocarbons for production of biopolymers – PHA.** 27 f. Work of Conclusion Course (Graduation in Food Technology) - Federal Technology University Paraná. Ponta Grossa, 2017.

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are polyesters produced by various microorganisms that synthesize and accumulate them in the form of intracellular granules, provided there is excess nutrient and carbon source limitation in the culture medium. Biopolymers are polysaccharides of microbial origin, also known as gums, which have the ability to form gels and viscous solutions in aqueous media. Therefore, the objective of this work was to evaluate the production of PHA biopolymers, from the use of industrial hydrocarbon residues such as motor oil, frying oil and sugarcane bagasse. In the experiments were verified the production of microbial cells, kinetics, hydrogenation potential, titratable acidity, determination of the total sugars concentration in the fermented, dry biomass and extraction of PHA, using a factorial experimental design 2³, with three central points. As a result *Sphingomonas spp.* Submitted to the fermentation medium containing 5 g L⁻¹ frying vegetable oil and 5 g L⁻¹ cane bagasse broth obtained higher amount of PHA at the end of 192 h, with higher productivity during the log phase of growth. New researches similar to those in this study are important, and the continuation of this work would be interesting in order to verify the possible industrial application of the polymer produced.

Keywords: Polyhydroxyalkanoates (PHAs). Biopolymers. *Sphingomonas spp.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Equações utilizadas na cinética do processo fermentativo.....	15
Figura 2 - Curva de crescimento microbiano de <i>Sphingomonas spp</i> , produção de polihidroxicanoato e concentração de açúcar durante 192 h em meio fermentativo do tratamento 5.....	19
Figura 3 - Resultados de Potencial hidrogeniônico durante 192 h em meio fermentativo.....	20
Figura 4 - Resultados de Acidez total titulável durante 192 h em meio fermentativo.....	21
Figura 5 - Resultados de Biomassa durante 192 h em meio fermentativo.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Traços dos elementos químicos utilizados no meio de cultura.....	14
Tabela 2- Planejamento Experimental Fatorial 2^3 para produção de PHA.....	14
Tabela 3- Parâmetros cinéticos da produção de PHA ao final do processo fermentativo.....	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1. PRODUÇÃO DE BIOMASSA.....	13
3.2. CINÉTICA DE PROCESSO DE PRODUÇÃO DE PHA.....	15
3.3 ANÁLISES REALIZADAS.....	16
3.3.1 Potencial Hidrogênico (pH).....	16
3.3.2 Acidez Total Titulável do Fermentado.....	16
3.3.3 Determinação da Concentração de Açúcares Totais do Fermentado.....	17
3.3.4 Biomassa Seca	17
3.4 EXTRAÇÃO DE PHA.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	18
5 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

Em vários processos das agroindústrias, existe a formação de resíduos que possuem considerável valor agregado, na sua forma natural ou não. Os resíduos gerados também chamados de subprodutos, representam perdas econômicas no processo produtivo e, em alguns casos, não recebem destinação adequada, causando problemas ambientais, demonstrando uma necessidade de alternativas para aproveitá-los (PELIZER et al., 2007).

As principais características dos PHA's são a rápida biodegradabilidade e propriedades termoplásticas, com elevado ponto de fusão, baixa rigidez, alta resistência à pressão, ao alongamento antes da ruptura, resistência ao impacto, sendo boa alternativa para substituição dos plásticos de origem petroquímica (ALMEIDA et al., 2006).

Os polihidroxialcanoatos (PHAs) são poliésteres produzidos por diversos micro-organismos que produzem biopolímeros intracelular, desde que haja no meio de cultivo limitação da fonte de carbono de baixo peso molecular. Porém, os custos do processo são elevados para sua comercialização devido a fonte de carbono necessária para o crescimento desses micro-organismos (FONSECA, 2003).

Desta forma, estudos tem sido feitos em busca de micro-organismos que tenham a capacidade para a produção do biopolímero e utilizem como matéria-prima substratos renováveis pela agricultura e que sejam de baixo valor comercial (ALMEIDA, 2006).

As relações cinéticas entre a multiplicação de micro-organismos e a formação de biomassa são importantes para determinar o modo de fermentação mais produtivo. A velocidade de formação de biopolímeros depende do micro-organismo, dos nutrientes e dos fatores como pH, acidez, temperatura, aeração do meio, que podem limitar o crescimento da biomassa, bem como a produção do biopolímero (ALMEIDA et al., 2013).

Considerando as perspectivas de aplicação dos PHAs, surge a necessidade de verificar o comportamento de novas variedades de micro-organismos produtores deste biopolímero em meio fermentativo com substratos alternativos, com intuito reduzir os custos do processo (DIAS et al., 2014).

Bactérias do gênero *Sphingomonas spp.* excretam biopolímeros como gelana, welana, ramsana e diutana que têm características gelificantes, apresentando melhores condições visando a estabilidade térmica e viscosidade. Esse fato fez com que as indústrias de alimentos, farmacêutica e petroquímica demonstrassem interesse em suas pesquisas relacionadas a este micro-organismo (BERWANGER et al., 2007).

O gênero *Sphingomonas spp.* foi classificado em 1983, e apresenta como características serem Gram negativos; não formadores de esporos; diâmetro de célula de 0,5 µm; formato de bastão ou cocobacilos retos ou curvos; não possui flagelos, mas algumas espécies podem exibir motilidade em meio semi-sólido; são catalase e oxidase positivas; são quimiorganotróficos, sem necessidade de fatores de crescimento especializados; não produzem indol nem acetilmetilcarbinol; não são proteolíticos nem gelatinolíticos; produzem ácido por oxidação de carboidratos, mas não por fermentação; e as colônias normalmente tornam-se amarelas após vários dias à temperatura ambiente (BERWANGER et al., 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho foi avaliar a produtividade de biopolímeros, polihidroxialcanoatos- PHA, a partir do uso de resíduos industriais de hidrocarbonetos, como óleo de motor, óleo vegetal de fritura e caldo do bagaço de cana.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Testar diferentes fontes de hidrocarbonetos provenientes de resíduos industriais como substrato para a fermentação de *Sphingomonas spp.*

Verificar a cinética do processo de produção de PHA nos tratamentos testados.

Caracterizar o fermentado obtido quanto ao pH, acidez titulável e açúcares totais nos tempos de 0, 72, 96, 144 e 192 h.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos laboratórios de Bioquímica e Microbiologia de alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa – Paraná. Foi utilizado a linhagem de *Sphingomonas spp.*, isolada do solo da cidade de Morretes-PR (lat -25°47'56", long -48°83'59") que foi mantido em meio fermentativo MSM (Meio Salino Mineral) (Ransay et. al.1990), sem limitação, mantido sob refrigeração de 8° C.

3.1 PRODUÇÃO DE BIOMASSA

A produção de biomassa rica em PHA foi realizado segundo RAMSAY et. al (1990). Foi utilizado 200 mL de meio de cultivo com limitação (1,25 g.L⁻¹ de fosfato dissódico heptahidratado; 0,42 g.L⁻¹ de fosfato monobásico de potássio; 1 g.L⁻¹ de sulfato de amônio; 0,2 g.L⁻¹ de sulfato de magnésio; 0,01 g.L⁻¹ de cloreto de cálcio; 0,06 g.L⁻¹ de citrato de amônio bibásico), adicionado de 1 mL de traços (Tabela 1), tendo como fontes de carbono o óleo de motor, óleo vegetal de fritura e o caldo do bagaço de cana, conforme planejamento experimental 2³ com três pontos centrais (Tabela 2). Foi inoculado 20% (v/v) da bactéria *Sphingomonas spp.*, e incubados a 30°C ± 1°C sob agitação de 100 rpm, em agitador (Shaker – Te 420, Tecnal) durante zero, 72, 96, 144 e 192 h.

Tabela 1. Traços dos elementos químicos utilizados no meio de cultura

ELEMENTOS	g L ⁻¹
H ₃ BO ₃	0,30
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,20
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,10
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,03
NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0,03
NiCl ₂ . 6H ₂ O	0,02
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,01

Fonte: RAMSAY et al.(1990)

Tabela 2. Planejamento Experimental Fatorial 2³ para produção de PHA

Tratamentos	Óleo de motor (g)	Óleo vegetal de fritura (g)	Caldo do bagaço de cana (g)
1	5	5	5
2	5	5	0
3	5	0	5
4	5	0	0
5	0	5	5
6	0	5	0
7	0	0	5
8	0	0	0
9 (C)	3	3	3
10 (C)	3	3	3
11(C)	3	3	3

Fonte: Autoria própria (2017)

3.2 CINÉTICA DE PROCESSO DE PRODUÇÃO DE PHA

A cinética de produção de PHA foi realizada segundo o consumo de açúcares totais, peso seco do PHA e da biomassa. Foi calculado a produtividade do produto e da biomassa, produção total do produto, rendimento do produto pela biomassa, velocidade máxima de crescimento da biomassa, velocidade volumétrica de formação de biomassa, velocidade volumétrica de formação de produto, velocidade de consumo de substrato e eficiência de conversão de substrato em produto, a partir das equações da figura 1.

Figura 1: Equações utilizadas na cinética do processo fermentativo

$$\text{Produtividade (produto)} = \frac{\text{massa do produto seco}}{\text{Volume do meio} \times \text{tempo de cultivo}} \quad \text{g L}^{-1} \text{ h}^{-1} \quad (1)$$

$$\text{Produtividade (X)} = \mu X \quad (2)$$

$$\text{Produção total} = \frac{\text{massa do produto seco}}{\text{Tempo de cultivo}} \quad \text{g.h}^{-1} \quad (3)$$

$$\text{Rendimento} \\ Y_{p/x} = \frac{P - P_0}{X_0 - X} \text{ g de produto/g de biomassa} \quad (4)$$

$$\mu_{\text{max}} = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{T_2 - T_1} \quad \text{h}^{-1} \quad (5)$$

$$\text{Velocidade volumétrica de formação de biomassa} \\ r_x = \frac{X_f - X_0}{t_f - t_0} \quad \text{g L}^{-1} \text{ h}^{-1} \quad (6)$$

$$\text{Velocidade volumétrica de formação de produto} \\ r_p = \frac{P_f - P_0}{t_f - t_0} \quad \text{g L}^{-1} \text{ h}^{-1} \quad (7)$$

$$\text{Velocidade de consumo substrato} \\ R_s = \frac{S_f - S_0}{t_f - t_0} \quad \text{g L}^{-1} \text{ h}^{-1} \quad (8)$$

$$\text{Eficiência de conversão substrato – produto (\%)} \\ Y_{p/s} = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f} \times 100 \quad (9)$$

$$\text{Eficiência de conversão substrato – biomassa (\%)} \\ Y_{x/s} = \frac{X_f}{S_0 - S_f} \times 100 \quad (10)$$

Fonte: Adaptada de Shishatskaya, Volova (2004).

Onde, X_0 = biomassa medida no tempo inicial (0 h); X_f = biomassa medida no tempo final (48, 96, 144, 192 horas); P_0 = produto medido no tempo inicial (0 hora); P_f = produto medido no tempo final (48, 96, 144, 192 h); S_0 = substrato medido no tempo inicial (0 h); S_f = substrato medido no tempo final (48, 96, 144, 192 h); t_0 = tempo inicial (0 h); t_f = tempo final (48, 96, 144, 192 h); $Y_{p/x}$ = rendimento; r_x = velocidade volumétrica de formação de biomassa; r_p = velocidade volumétrica de formação de produto; R_s = velocidade de consumo de substrato; $Y_{p/s}$ = eficiência de conversão de substrato em produto; $Y_{x/s}$ = eficiência de conversão de substrato em biomassa.

3.3 ANÁLISES REALIZADAS

As análises realizadas estão descritas a seguir. Realizadas no planejamento experimental fatorial 2^3 com três pontos centrais e as mesmas foram verificadas nos seguintes tempos: 0, 72, 96, 144 e 192 h.

3.3.1 Potencial hidrogeniônico (pH) do fermentado

O pH foi determinado conforme o Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), por medição direta em peagâmetro de bancada, previamente calibrado com soluções tampão pH 4 e 7, com amostras de aproximadamente 10 mL. A análise foi realizada nos tratamentos descritos no planejamento fatorial.

3.3.2 Acidez total titulável do fermentado

A análise de acidez total titulável foi realizada pelo método descrito pelo Instituto Adolf Lutz (2008). O titulante usado foi uma solução de NaOH 0,83N, o indicador de viragem foi uma solução de fenolftaleína a 1%, foram utilizados 10 mL de cada tratamento.

3.3.3 Determinação da concentração de açúcar total do fermentado

Para a determinação de concentração dos açúcares totais presentes foi realizado segundo o método fenol-sulfúrico, descrito por Dubois et al. (1956). Foi retirado 1 mL de caldo fermentado, adicionado 1 mL de fenol 5%, e 5 mL de ácido sulfúrico P.A. Esta solução foi mantida em repouso em temperatura ambiente e em abrigo da luz, por 30 minutos. Logo após foi conduzido a leitura em espectrofotômetro UV-Vis em um comprimento de onda de 480 nm. Os resultados da absorvância obtidos foram expressos em g.L^{-1} .

3.3.4 Biomassa seca

O peso seco da biomassa foi obtida por meio de alíquotas de 10 mL dos meios de cultura, seguido de centrifugação a 3000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e a biomassa secas em placas de petri dessecadas, em estufa a 105°C por 24 h e pesadas, até massa constante.

3.4 EXTRAÇÃO DE PHA.

A extração do PHA foi realizada segundo o método desenvolvido por Shishatskaya, Volova (2004). Foi adicionado 1 g da biomassa em suspensão em 1 mL de hipoclorito de sódio e incubada a 37°C por 1 h. Em seguida adicionado 1 mL de acetona e novamente incubado por um período de mais 1 h. Decorrido o tempo, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm durante 15 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante obtido foi descartado e o *pellet* lavado de 2-3 vezes com álcool a 96% e água destilada. O peso do PHA foi obtido através da secagem do *pellet* em filtro de papel, em estufa a 105°C por 24 h, onde o peso final do filtro foi subtraído do inicial obtendo-se assim a quantidade em peso de PHA. Isso foi feito para os tempos de 0, 72, 96, 144 e 192 h.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A bactéria *Sphingomonas spp.* em processo fermentativo com 0 g L⁻¹ de óleo de motor, 5 g L⁻¹ de óleo vegetal de fritura e 5 g L⁻¹ caldo de bagaço da cana (tratamento 5) apresentou maior produção de PHA ao final do processo fermentativo em 192 h com (4,4 g L⁻¹) (Tabela 3). Hommel et al. (1994), relata que de modo geral a produção de biopolímeros ocorre com a presença de carbonos solúveis em água, porém resultados mais significativos são adquiridos com substratos hidrofóbicos, fato que pode ter ocorrido neste trabalho.

Tabela 3: Parâmetros cinéticos da produção de PHA ao final do processo fermentativo com 192 horas.

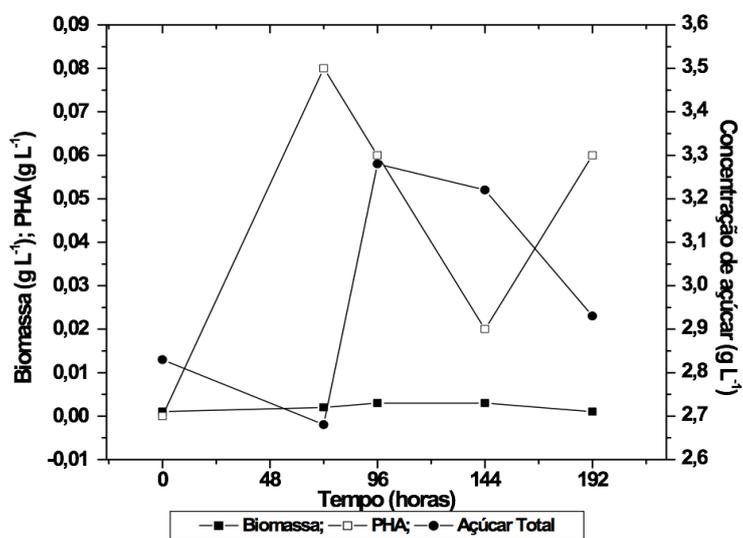
Trat	X g L ⁻¹	μ _{máx} gh ⁻¹	T dup h	Prodt(X) g L ⁻¹ h ⁻¹	P g L ⁻¹	Prodt(P) g L ⁻¹ h ⁻¹	Prodttotal (P) g h ⁻¹	Y _{p/x} g g ⁻¹	rx g L ⁻¹ h ⁻¹	rp g L ⁻¹ h ⁻¹	S g	Y _{P/S} %
1	0,10	0	0	0,0000	0,0800	0,0046	0,00001	0,0	0	0,0009	2,3	0,36
2	0,12	0,0009	48	0,0001	2,6000	0,1150	0,00001	22,5	0,0001	0,0230	3,9	4,80
3	0,14	0,0062	81	0,0009	3,2000	0,1845	0,00002	22,5	0,0005	0,0265	2,5	45,02
4	0,14	0,0029	15	0,0004	3,4000	0,2235	0,00002	2,5	0,0005	0,0447	2,3	7,18
5	0,20	0,1789	86	0,0358	4,4000	0,2734	0,00002	45,0	0,0012	0,0547	3,0	11,59
6	0,22	0,0088	111	0,0019	1,0000	0,0521	0,00002	10,0	0,0013	0,0104	1,1	6,67
7	0,22	0,0088	111	0,0019	2,4000	0,1302	0,00002	23,8	0,0013	0,0260	1,2	3,89
8	0,20	0,1782	99	0,0356	0,1200	0,0076	0,00002	3,5	0,0009	0,0015	0,9	0,53
9	1,22	0,0231	32	0,0281	0,8000	0,0456	0,00009	0,9	0,0101	0,0326	1,3	0,82
10	1,42	0,0249	30	0,0353	1,0000	0,0586	0,00012	0,8	0,0127	0,0117	1,3	0,82
11	1,42	0,0249	30	0,0353	1,2000	0,0760	0,00012	1,0	0,0127	0,0152	1,3	0,97

Nota: Trat = tratamentos; X = biomassa, μ_{máx} = velocidade máxima de crescimento do MO; T dup h = tempo de duplicação do MO; Prodt (X) = produtividade da biomassa; p = produto (PHA); Prodt(P) = produtividade do produto; Prodttotal = produção total; Y_{p/x} = Rendimento (g de produto/gde biomassa); rx = velocidade volumétrica de formação de biomassa; rp = velocidade volumétrica de formação do produto; S = substrato (açúcar); Y_{P/S} = eficiência de conversão de substrato em produto.

Fonte: Autoria própria (2017)

Na figura 2, pode ser observado que no meio fermentativo do tratamento 5, a maior produção de PHA pela *Sphingomonas spp.* ocorre de forma acentuada durante a fase logarítmica até 72 horas. O consumo de açúcar foi de 3,5% no final do processo fermentativo, indicando ainda a disponibilidade de fontes de carbono no meio fermentativo.

Figura 2: Curva de crescimento microbiano de *Sphingomonas spp.*, produção de polihidroxialcanoato e concentração de açúcar durante 192 h em meio fermentativo do tratamento 5.

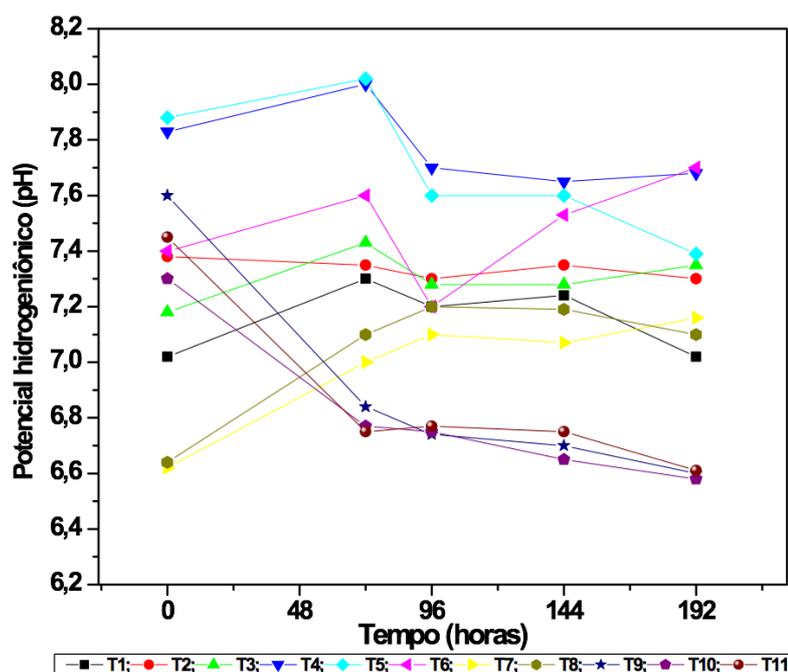


Fonte: Autoria própria (2017)

Os micro-organismos podem sofrer influência em seu crescimento e sobrevivência em relação ao pH do meio. O pH reflete a capacidade de multiplicação de algumas espécies, dentro de um espaço (mínimo, ótimo e máximo) específico de pH. Diversas espécies de micro-organismos têm varias flexibilidades de pH e estes pH específico demonstram a habituação da espécime ao seu ambiente natural (Franco, Landgraf, 2005).

O pH de cada tratamento foi analisado através de 10 mL de amostra, retirado do meio fermentativo, para verificar o nível de acidez, basicidade ou alcalinidade em que o micro-organismo obteve melhor multiplicação. O comportamento do pH do meio fermentativo está representada na Figura 3.

Figura 3: Resultados de Potencial hidrogeniônico durante 192 h em meio fermentativo

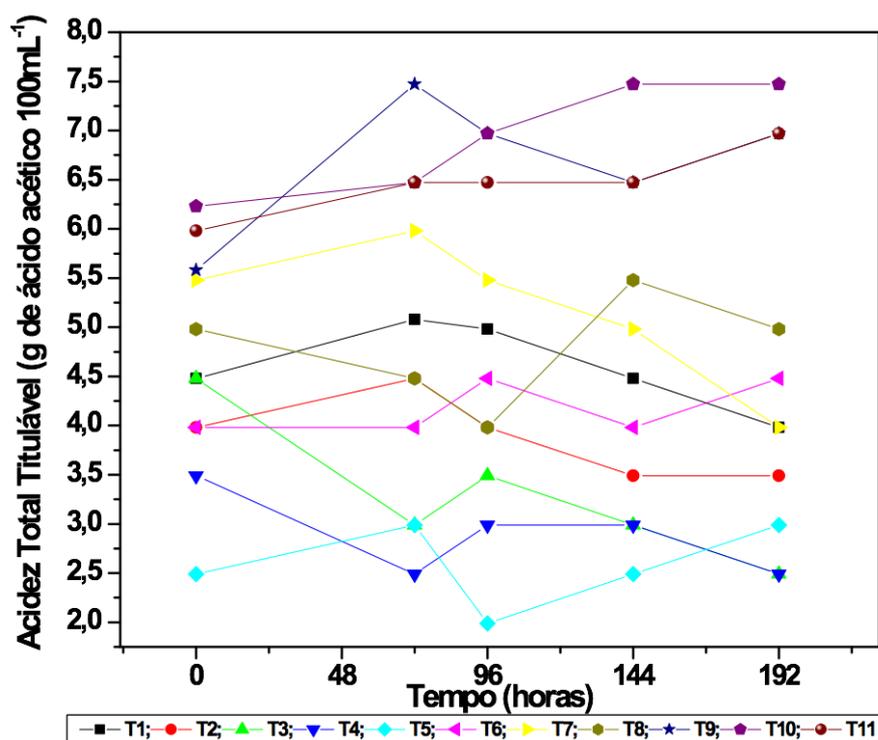


Fonte: Autoria própria (2017)

Foi possível constatar que em 72 horas de fermentação, onde ocorreu a maior produtividade celular para o tratamento 5, o qual encontravam-se com pH próximo a 8,0 (Figura 3).

Na figura 4 está demonstrado os resultados para Acidez Total Titulável do fermentado. Onde a média dos tempos variou-se entre 2,59 e 6,92 mL de ácido acético.

Figura 4 – Resultados de Acidez total titulável durante 192 h em meio fermentativo

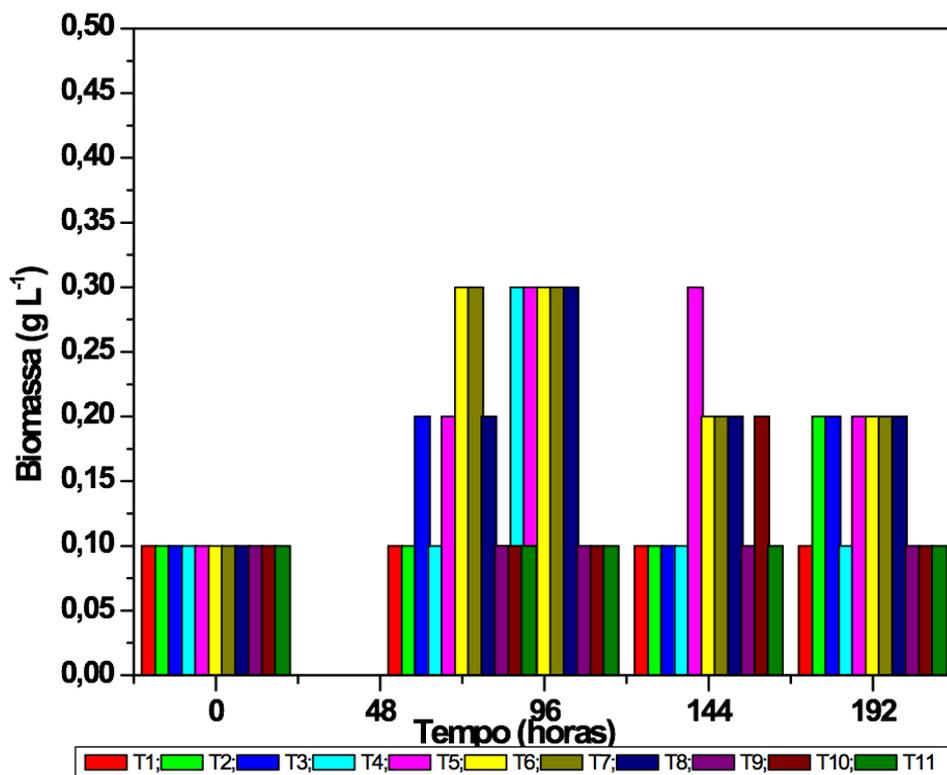


Fonte: Autoria própria (2017)

A produção de ácido acético nos meios fermentativos, apresentaram-se diferenças, de 2,49 mL no tempo 0 e de 7,47 mL no tempo de 192 h. O tratamento 5 obteve uma média de 2,59 mL entre os tempos de 0h e 192 h, os tratamentos 9, 10 e 11, os resultados foram de 5,58 mL e 7,47 mL de ácido acético.

Na figura 5, encontram-se os resultados de biomassa obtida nos tratamentos, pode-se observar o maior resultado encontra-se em 0,30 g L⁻¹, com tempo entre 72 horas e 96 horas.

Figura 5- Resultados de Biomassa durante 192 h em meio fermentativo



Fonte: Autoria própria (2017)

Com os resultados obtidos neste estudo foi possível verificar que o bagaço de cana, óleo de fritura e óleo motor e suas interações, tiveram significância estatística ($p \geq 0,05$) para a produção de biomassa no processo fermentativo do biopolímero. Dias et al. (2014) discorre que a máxima velocidade específica de crescimento (μ_x) de 75 h⁻¹ no instante e após 8 h, a velocidade instantânea foi de 0,05 g./L⁻¹h⁻¹.

O uso alternativo de substratos com custo baixo, especificamente os resíduos produzidos pelas agroindústrias, permite a redução de custos na produção minimizando os problemas ambientais (MENEZES et.al., 2012).

Este trabalho incluiu-se no ramo da biotecnologia, que vem se tornando um promissor campo para atuação de profissionais em pesquisas acadêmicas ou até mesmo atuação industrial. Atualmente, a procura por micro-organismos que possuem potencial biotecnológico vem só aumentando. Este avanço tem permitido a descoberta de novos polímeros, que possuem ampla aplicação em diversos campos da indústria, seja ela alimentícia, química, biológica entre outras (PEREIRA, FERRAZ, 2016).

Luvielmo e Scamparini (2009) relatam que os biopolímeros podem ser de origem vegetal, marinha ou microbiana, e mencionam que a sua produção a partir de micro-organismos, desde que em condições controladas de fermentação, consegue-se garantir um material de qualidade. Entre as principais vantagens estão a biodegradabilidade, alta regularidade estrutural, abundância na natureza, maior rapidez na obtenção do produto acabado e necessidade de menor espaço físico das instalações fabris, além da versatilidade de uso em diversas áreas como engenharia, biotecnologia e medicina, como mencionado anteriormente, além de muitas vezes se tratar de um composto atóxico. Portanto, pesquisas como a feita neste trabalho são de suma importância.

5 CONCLUSÃO

A *Sphingomonas spp.* submetida da fermentação contendo 5 g L⁻¹ de óleo vegetal de fritura e 5 g L⁻¹ caldo de bagaço da cana produziu maior quantidade de PHA de (4,4 g L⁻¹) no tratamento 5, ao final de 192 h. Os tratamentos, com maior produtividade foi durante a fase logarítmica de crescimento, a partir de 72 horas.

Foi verificado que existe a possibilidade de produção considerável de PHA a partir da linhagem de *Sphingomonas spp.*

Novas pesquisas como as semelhantes aos deste estudo são importantes, e a continuação deste trabalho seria interessante a fim de verificar a possível aplicação industrial do polímero produzido.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.A. ***Chromobacterium violaceum*: Caracterização cultural, bioquímica, molecular e detecção da produção de polihidroxicanoato-PHA**. 2006. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

ALMEIDA, D. M.; PRESTES, ROSILENE A. ; PINHEIRO, LUÍS A. ; WOICIECHOWSKI, ADENISE L. ; WOSIACKI, GILVAN . Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros (São Carlos. Online)**, v. 23, p. 538-546, 2013.

BERWANGER, A. L. da S. ; SCAMPARINI, A.R. .P ; PADILHA, F.F.; TREICHEL, H. ; DOMINGUES, N. M. ; VANZO, L. T. . Produção de Biopolímero Sintetizado por *Sphingomonas capsulata* a partir de Meios Industriais. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)** , v. 31, p. 177-183, 2007.

DIAS, E.C.; ALMEIDA, E.S.; MELO, G.G.; SOUZA, B.L.P.; VAZ, M.R.F. **AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE CRESCIMENTO DA PSEUDOMONAS AERUGINOSAP029- GVIIA PARA PRODUÇÃO DE POLIHIDROXIALCANOATOS (PHAs)** Anais – I Seminário Regional sobre Potencialidades do Bioma Caatinga 23 a 25 de abril de 2014.

DUBOIS, M. G.; GILLES , K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.3, p. 350-356, 1956.

FONSECA, G. G. **Produção de polihidroxicanoatos por *Escherichia coli* recombinante**. Dissertação(mestrado). 178f. Pós Graduação em Engenharia de alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

FRANCO, B.D.G. de M. ; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo, Atheneu, 2005.

HOMMEL, R.K.; WEBER, L. WEISS, A. HIMMELREICH, U.; RIKE, O.; KLEBBER, H.P. Production of sophorose lipid by *Candida apícola* from glucose. **J. Biotechnol**, p. 147-155, 1994.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

LUVIELMO. M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**. v.5, n.1. p. 50-67, 2009.

MENEZES, J. D. S.; DRUZIAN, J. I.; PADILHA, F. F.; SOUZA, R. R. Produção biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicações. **Revista Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v(8), n 8, p. 1761-1776, 2012.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, n. 2, p. 118-127, 2007.

PEREIRA, E. L.; FERRAZ, A. T. Bioprocessos para a produção de goma xantana utilizando resíduos agroindustriais como matérias-primas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, n. 14, p. 756-776, 2016.

RAMSAY, B. A.; LOMALIZA, K.; CHAVARIE, C.; DUBE, B.; BATAILLE, P.; RAMSAY, J. A. Production of poly-(β -hydroxybutyric-co- β -hydroxyvaleric) acids. **Applied Environmental Microbiology**, n. 56, p. 2093-2098, 1990.

SHISHATSKAYA, E.I.; VOLOVA, T.G. A comparative investigation of biodegradable polyhydroxyalkanoate films as matrices for *in vitro* cell cultures. **Journal of Materials Science:Materials in Medicine**, vol. 15, n. 8, p. 915-923, 2004.