



SÍNTESE DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DA BIOCONVERSÃO DE EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE MANDIOCA POR *Cupriavidus necator*

Gutiérrez, M. P.¹; Anias, F. S.¹; Carvalho, N. S.¹; Santana, J. S.¹; de Jesus, A. B.S.⁴; Cardoso, L. G.^{1,4}; de Souza, C. O.²; da Silva, J. B. A.³; Assis, D. J.^{1,4}

¹Universidade Federal da Bahia, Escola Politécnica, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química

²Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises Bromatológicas

³Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas

⁴ Universidade Salvador, Escola de Ciências Exatas e Tecnológicas

E-mail para contato: mashely.pg@gmail.com

RESUMO

Os polihidroxicanoatos (PHAs) amplamente reconhecidos como bioplásticos, porém ainda não são competitivos em relação aos plásticos petroquímicos, principalmente devido ao alto custo dos substratos utilizados para sua produção comercial. Por outro lado, o resíduo agroindustrial do processamento da farinha de mandioca, a manipueira, fonte de nutrientes e carbono foi empregado como substrato de fermentação para duas espécies bacterianas produtoras de PHA. As espécies testadas foram capazes de crescer e acumular PHA no cultivo contendo este resíduo, sendo *C. necator* DSM 545 quatro vezes superior na produção de PHA do que *C. necator* DSM 531. Visando melhorar a disponibilidade de carbono e, conseqüentemente, o desempenho produtivo, foi desenvolvido o hidrolisado de manipueira para cultivar a cepa de melhor desempenho. Nas mesmas condições, o cultivo com hidrolisado elevou o acúmulo de biomassa em 73% e a produção de PHA em 108%, demonstrando ser uma alternativa promissora para agregar valor à cadeia produtiva de mandioca e gerar PHAs de baixo custo.

Palavras-chave: *Manihot esculenta*, resíduo, hidrolisado, *Cupriavidus necator*, bioplástico.

1. INTRODUÇÃO

Os plásticos de origem petroquímico se tornaram um produto essencial na sociedade moderna, devido às suas propriedades, como resistência, tenacidade, flexibilidade e versatilidade de aplicação para diversas indústrias ^(1,2). Porém, apesar de sua grande aplicação na vida cotidiana, os plásticos convencionais são considerados grandes ameaças ecológicas por serem derivados do petróleo e por sua natureza recalcitrante⁽³⁾. Assim, surge a necessidade de se desenvolver alternativas para a

produção de plásticos biodegradáveis com qualidades semelhantes aos sintéticos e de baixo custo.

Os polihidroxialcanoatos (PHAs) são polímeros de base biológica que atualmente exibem um dos mercados em crescimento mais acentuado no nicho dos bioplásticos⁽⁴⁾, tornando-os potenciais candidatos não só na área de embalagens, mas também na área médica, por serem atóxicos, termoplásticos, biodegradáveis e biocompatíveis⁽⁵⁾. Esses biopolímeros são armazenados intracelularmente como fonte de energia por uma ampla variedade de bactérias. Na maioria das vezes, são produzidos em meio contendo a fonte de carbono em excesso, sais minerais (meio mínimo) e sob limitação de um nutriente, como nitrogênio ou fósforo ^(6,7).

Cupriavidus necator são bactérias capazes de metabolizar várias fontes de carbono, incluindo materiais residuais e produzir PHA ⁽⁸⁾. No entanto, em escala industrial os custos de produção ainda não são economicamente viáveis e competitivos em relação aos plásticos convencionais, principalmente devido ao alto custo dos substratos (30 a 40% do custo total de produção) que são os açúcares puros de alto valor comercial ⁽⁹⁾. Estudos indicam que é possível reduzir o custo de fabricação dos PHAs usando substratos de baixo custo, como resíduos da agricultura ou da indústria alimentícia ^(7,10).

Grandes volumes de resíduos orgânicos provenientes da agroindústria estão disponíveis anualmente em todo o mundo, sendo pouco explorado ou descartado de maneira inadequada. O Brasil se destaca no cenário mundial como produtor agrícola, sendo a mandioca considerada um dos principais, devido ao aproveitamento de quase todas suas partes ^(11, 12). No entanto, um problema notório é a elevada produção de resíduos oriundos do processamento de farinha de mandioca, cuja toxicidade gera danos ao meio ambiente ⁽¹³⁾. Desses resíduos merece destaque a manipueira, líquido resultante da prensagem da massa da mandioca ralada. Foi comprovado que esse efluente apresenta teores consideráveis para macro, micronutrientes e matéria orgânica ⁽¹⁴⁾.

Por essas razões, a fim de superar os problemas econômicos e ambientais ligados à poluição plástica, conservação de recursos fósseis e redução das emissões de resíduos das agroindústrias para o meio ambiente, surge a perspectiva de se

empregar a manipueira como fonte de carbono para o metabolismo de *Cupriavidus necator* DSM 545 na produção de PHA.

2. METODOLOGIA

2.1 Microrganismo e substrato

As cepas de *Cupriavidus necator* DSM 531 e DSM 545 foram oriundas da Coleção Alemã de Microrganismos e Cultura Celulares do Instituto Leibniz. Os microrganismos foram cultivados em ágar nutriente composto de 5,0 g L⁻¹ de peptona de carne, 3,0 g L⁻¹ de extrato de carne e 1,5 g L⁻¹ de ágar bacteriológico a (30 °C, 48h) e preservados a 4 °C. A manipueira foi fornecida por uma empresa de farinha de mandioca do município de Inhambupe, BA, Brasil, e foi mantida sob congelamento a -20°C até sua utilização.

2.2 Meio de cultivo

Os microrganismos foram cultivados em duas pré-culturas e uma cultura final⁽¹⁴⁾. Para a cultura inicial, colônias (~10 µL) foram transferidas para 50 mL de caldo nutriente, incubados em agitador orbital (Tecnal, Mod. TE-424) a 150 rpm e 35°C por 24h.

Para a segunda pré-cultura foram transferidos 10% (m/v) da primeira pré-cultura para o meio mínimo composto de ácido nitrilotriacético (1,9 g L⁻¹, m/v), citrato ferroso de amônio (1,0 g L⁻¹, m/v), MgSO₄ 7H₂O (0,5 g L⁻¹, m/v), CaCl₂ 2H₂O (3,0 g L⁻¹, m/v), (NH₄)₂SO₄ (4,0 g L⁻¹, m/v), solução de oligoelementos (1,0 g L⁻¹, m/v), Na₂HPO₄ 12H₂O (0,2 g L⁻¹, m/v) e KH₂PO₄ (3,7 g L⁻¹, m/v) e manipueira (2%, v/v). O pH foi ajustado para 7,0 e incubado a 35°C, 150 rpm, por 24h. Foram transferidos 10% (v/v) desta cultura para a cultura final (com limitação de um nutriente essencial) contendo o mesmo meio mineral anteriormente mencionado, porém limitado em fonte de nitrogênio (NH₄)₂SO₄ (2,3 g L⁻¹, m/v) e manipueira (2%, v/v). O pH foi ajustado para 7,0 e as culturas foram incubadas a 35°C, 150 rpm, por 72h.

Foi testada outra condição de cultivo com pré-tratamento da manipueira, para verificar se o microrganismo era capaz de melhorar o desempenho tanto no acúmulo de biomassa quanto na produção de PHA. Os protocolos de inoculação e cultivo foram conduzidos da mesma forma explicada acima, porém alterado para a manipueira hidrolisada.

2.3 Pré-tratamento da manipueira

A manipueira foi hidrolisada pela mistura de 10 mL da mesma e 50 mL de H₂SO₄ a 2% (v/v) foi autoclavado por 10 min a 121 °C. O pH foi ajustado para 6,5 com NaOH 1 mol L⁻¹ seguida de centrifugação a 10 000 rpm por 10 min ⁽¹⁵⁾. O sobrenadante foi utilizado como substrato de fermentação para a cepa de melhor desempenho. A hidrólise da manipueira foi monitorada pela quantificação de açúcares redutores (AR) e as concentrações são dadas em g L⁻¹ no hidrolisado.

2.4 Métodos analíticos

Biomassa: O monitoramento do crescimento celular foi realizado através da determinação da biomassa seca. Alíquotas de 2,0 mL foram retiradas assepticamente a cada 24h e centrifugadas a 10 000 rpm por 10 min. Os pellets resultantes foram secos a 40 °C por 48h. A determinação da biomassa foi realizada por análise gravimétrica e expressa em g L⁻¹.

Carboidratos: Uma solução de glicose (1,0 g L⁻¹) foi utilizada como padrão. Em um tubo de ensaio foi adicionado 1,0 mL de reagente DNS para 1,0 mL da amostra. Após homogeneização, a reação foi realizada em banho-maria a 100 °C por 10 minutos e posteriormente resfriada em banho frio. O conteúdo do tubo foi completado com água destilada, até alcançar um volume final de 10 mL. Após homogeneização a reação foi seguida determinando imediatamente a inclinação do aumento de absorbância a 540 nm em um espectrofotômetro (Lambda 35 UV/Vis-Perkin Elmer).

2.5 Extração de PHA

Após 72h de cultivo, as células foram colhidas para centrifugação a 10 000 rpm por 10 min a 5°C (HITACHI, modelo CR 22G). Os pellets contendo PHA foram secados a 40°C por 48h. Foram pesadas 0,5 g de material celular para ser adicionado em 50 mL de clorofórmio aquecido a 60°C e com agitação vigorosa por 2h. Seguida de uma filtração a vácuo através de filtros de papel (poros de 0,5 mm). O PHA foi obtido após evaporação do solvente.

A partir do polímero extraído, foram determinadas as concentrações de biomassa total e de PHA, foram calculadas por análise gravimétrica, expressa em g L⁻¹. A produção de PHA também foi expresso em % (m/m) de biomassa seca.

2.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram realizadas usando um espectrômetro (Perkin Elmer Modelo Espectro 100, Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, EUA). Os espectros foram registrados na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} .

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Pré-tratamento da manipueira

C. necator DSM 545 foi selecionado para bioconverter o amido da manipueira em produção de PHA, mas como essa linhagem carece de enzimas amilolíticas ^(7, 9) este resíduo foi pré-tratado com ácido sulfúrico em altas temperaturas para hidrolisar os açúcares complexos na forma de açúcares redutores, sendo a glicose um deles. ⁽¹⁶⁾

O hidrolisado de manipueira apresentou 139,43 g L^{-1} de AR. Cabral encontrou valor similar (134,84 g L^{-1} de AR) ao utilizar hidrólise ácida 20% (m/v) em resíduo de mandioca. Teerapatr et al. obtiveram 122,4 g L^{-1} de AR ao hidrolisarem resíduos de mandioca com um mix de celulases, pectinase, α -amilase e glicoamilase, atingindo assim uma concentração de açúcares menor do que nossos resultados. Nesse sentido, a hidrólise ácida demonstrou ser um método eficaz e menos custoso para a sacarificação da manipueira.

3.2 Crescimento celular e produção de PHAs

As duas cepas de *C. necator* foram capazes de crescer e produzir PHA no meio tendo como substrato a manipueira sem pré-tratamento, conforme mostrado na Figura 1a e 1b. O crescimento celular para DSM 531 apresentou uma fase exponencial nas primeiras 24h, com concentração de 0,90 g L^{-1} , e ao término do cultivo (72h) o crescimento celular apresentou um decréscimo, atingindo 0,75 g L^{-1} de concentração de biomassa, enquanto a formação do biopolímero começa após 12h de cultivo, prossegue por cerca de 48h e, em seguida, estabiliza-se até que o substrato seja consumido ao final de 72h, alcançando um teor de 0,03 g L^{-1} de PHA.

Na figura 1b, a cepa DSM 545 após 24h dia de cultivo, atinge um pico de acúmulo de biomassa de 1,05 g L^{-1} . Após esse período o contínuo aumento da produção do biopolímero continua até o final do cultivo (0,75 g L^{-1} de biomassa e 16,27% PHA). No geral, ambas as cepas apresentaram crescimento celular próximos, atingindo valores de concentração de biomassa iguais (0,75 g L^{-1}) até o final do cultivo. Porém apenas

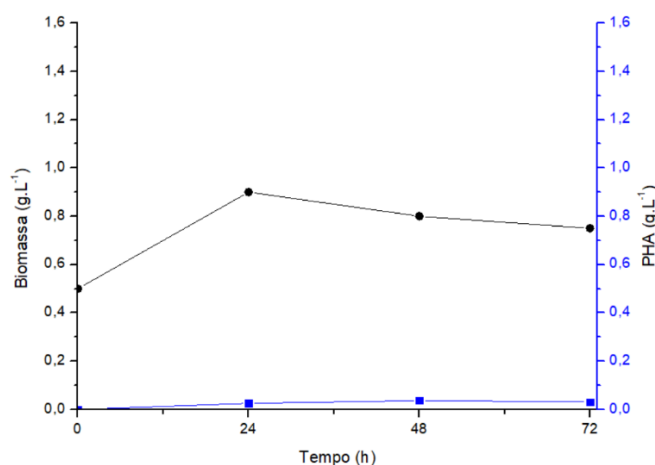
a cepa DSM 545 inicia imediatamente o acúmulo do biopolímero e se mantém de forma exponencial ao longo do cultivo, atingindo um valor final de PHA quatro vezes superior ($0,12 \text{ g L}^{-1}$ de PHA).

Assim verificado o melhor desempenho desta cepa, no próximo cultivo (Figura 1c) foi adotado o pré-tratamento de hidrolises da manipueira, onde a cepa DSM 545 inicia imediatamente o acúmulo de biomassa nas primeiras 12h de cultivo. A maior parte da biomassa foi acumulada durante as 48h, atingindo um valor de $1,5 \text{ g L}^{-1}$, após esse período o acúmulo de biomassa é apenas diminuído para $1,3 \text{ g L}^{-1}$ para o restante do tempo de fermentação (72h). A produção de PHA não é estritamente separada da produção de biomassa, ou seja, alguma porcentagem de PHA já é formado durante o crescimento celular. A produção de PHA também começa imediatamente nas primeiras 12h de cultivo e atinge a taxa máxima de $0,5 \text{ g L}^{-1}$ com 48h, após 3 dias de cultivo a produção de PHA diminui e cessa quando o substrato é esgotado. Neste ponto, atinge-se uma concentração de biopolímero de $0,25 \text{ g L}^{-1}$. Isso corresponde a um rendimento de 108% em comparação com os ensaios com manipueira sem hidrolisar.

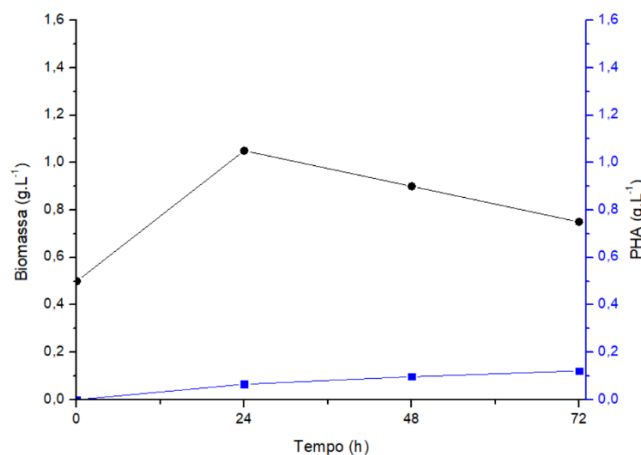
Figura 1. Perfil da concentração celular (g L^{-1}) durante o cultivo de *C. necator* (a) DSM 531, (b) DSM 545, suplementados com 2% (v/v) de manipueira e (c) DSM 545 suplementado com 2% (v/v) de manipueira hidrolisada, durante 72h.

(●) Biomassa (■) PHA

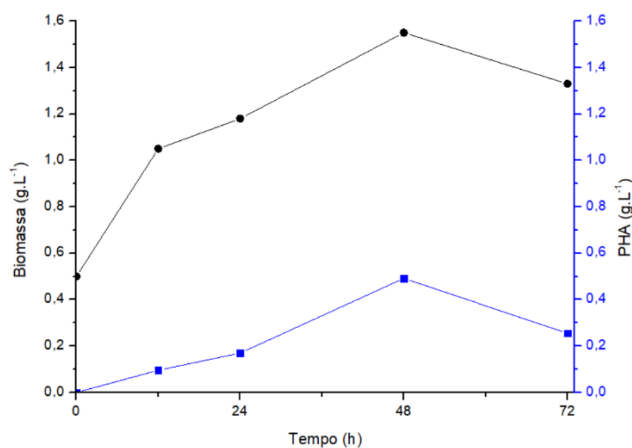
(a)



(b)



(c)



A partir dos dados apresentados, as condições ótimas gerais para acúmulo de biomassa e produção de PHA no cultivo suplementado com manipueira hidrolisada foi favorecido pela maior biodisponibilidade de fonte de carbono (Figura 1c), uma vez que 2% do hidrolisado tem uma quantidade de glicose disponível para ser metabolizado em comparação à quantidade em 2% de manipueira sem hidrolisar que ainda contem açúcares complexos dificilmente disponíveis.⁽⁶⁾

Haas et al. cultivaram a cepa de *C. necator* DSM 531 em meio contendo hidrolisado de raízes de chicória em uma fermentação descontínua de 120h, obtendo uma biomassa de 3,5 g L⁻¹ e um teor de PHA de 45 %. A mesma cepa também foi cultivada por Caputo et al. resultando em uma densidade celular de 9,4 g L⁻¹ e 0,45 g L⁻¹ de PHA em 60h de cultivo, alcançando um rendimento de 4,78%. Esses resultados são mais comparáveis aos nossos. No entanto, neste segundo estudo, o cultivo foi em lote com 3 vezes repetidas de suplementação para um meio mineral sintético.

No caso da cepa DSM 545 foi cultivada por Brojanigo et al. em um meio tendo como substrato resíduos de arroz quebrado, onde os autores aplicaram um processo simultâneo de sacarificação e fermentação (SSF) com um coquetel comercial de amilases STARGEN™ 002, resultando em 13,32 g L⁻¹ de biomassa e 38,51% de PHA em 72h de cultivo.

Conforme apresentado na Tabela 1, para o desenvolvimento dos meios de cultivo com manipueira hidrolisada três condições foram determinadas, acúmulo de biomassa, produção de PHA e rendimento de PHA.

Tabela 1: Concentração de biomassa e PHA produzido em meio contendo 2% (m/v) de manipueira e 2% (m/v) de manipueira hidrolisada

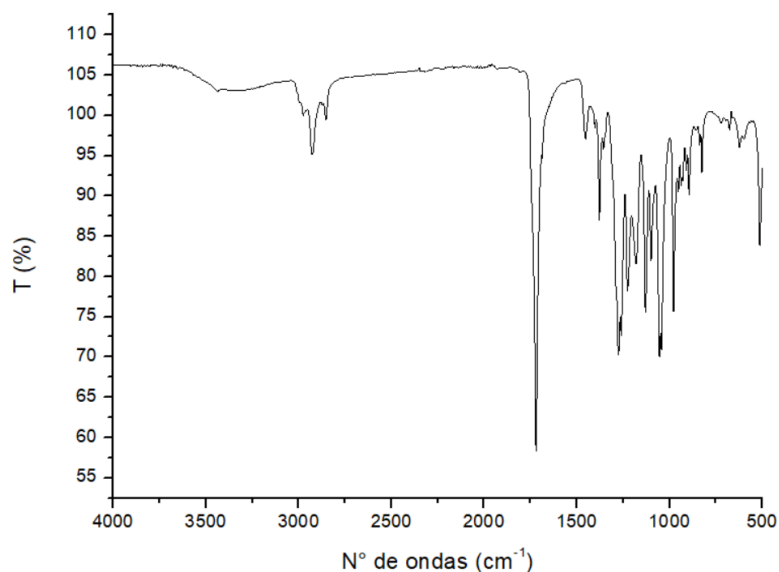
	DSM 531	DSM 545	DSM 545 manipueira hidrolisada
Biomassa (g L ⁻¹)	0,75 ± 0,08	0,75 ± 0,06	1,30 ± 0,05
PHA (g L ⁻¹)	0,03 ± 0,05	0,12 ± 0,05	0,25 ± 0,03
PHA (%)	4,00 ± 0,09	16,27± 0,07	19,23± 0,06

Nas mesmas condições de cultivo e visando melhorar a disponibilidade de carbono e, conseqüentemente, um melhor desempenho produtivo, o hidrolisado da manipueira foi empregado para a cepa DSM 545 o que levou a um desempenho superior de acúmulo de biomassa em até 73% e a produção de PHA em até 108% em comparação com a cepa DSM 531 em meio com manipueira sem pré-tratamento.

3.3. Caracterização estrutural do PHA

A Figura 2 apresenta o espectro de FT-IR obtido a partir de medidas de transmitância (T) do biopolímero resultante do cultivo da cepa bacteriana *C. necator* DSM 545 em meio contendo manipueira hidrolisada. Mostra-se as bandas características mais importante para identificar este biopolímero, além de uma série de bandas intensas.

Figura 2. Espectros de infravermelho do PHA produzido por cultivo de *C. necator* DSM 545 em meio contendo manipueira hidrolisada.



Conforme mostrado na Figura 2, as bandas de absorção, representado em torno de 1740 cm^{-1} , comprimento de onda característico para ácidos carboxílicos ($1700\text{--}1740$), que representa o grupo C=O (grupo carbonila) dos ácidos alifáticos saturados, como é o caso dos distintos PHAs. Além disso, a presença de bandas em 1191 cm^{-1} e 1103 cm^{-1} referem-se ao modo de estiramento do grupo éter (C-O) no ácido carboxílico ligado ao ácido do anel aromático e à ligação éster (C-O-C) entre as partes alifáticas da molécula ⁽²²⁾, em $2923\text{--}2852\text{ cm}^{-1}$ apresentou bandas intensas foram apresentadas em 1456 cm^{-1} ; devido à deformação assimétrica da ligação CH_3 , as outras bandas na faixa de 1000 a 1500 cm^{-1} são causadas por vibrações ou estiramento da ligação CH_2 , observou-se também uma banda larga entre 3000 e 3500 cm^{-1} , causado por moléculas de água⁽²⁰⁾.

Além disso, a presença de bandas em 1459 cm^{-1} e 767 cm^{-1} indica grupos hidroxila (OH) na cadeia do polímero de polihidroxialcanoato, confirmando assim a relação de bandas indicativas para identificar PHAs ⁽²³⁾. A análise das amostras obtidas por FTIR permitiu confirmar, que o material obtido é PHA devido às similitudes encontradas nas bandas características do biopolímero.

4. CONCLUSÃO

Os resultados são promissores já que demonstraram que a manipueira hidrolisada pode ser incluída entre os substratos capazes de produzir polihidroxialcanoatos por bactérias, principalmente quando cultivado em condições de deficiência de nitrogênio.

O acúmulo por conversão do hidrolisado de manipueira permitiu estimar um enorme potencial para produção de PHAs com a possibilidade de atribuir valor aos resíduos agroindustriais ricos em nutrientes e carbono que podem contribuir para a redução de custos desse bioprocesso, tornando-o mais competitivo ao passo que se agrega valor à cadeia produtiva da mandioca.

5. REFERÊNCIAS

- (1) NARANCIC T., CERRONE F., BEAGAN N., O'CONNOR K. E. Recent Advances in Bioplastics: Application and Biodegradation. *Polymers*, v. 12, n. 4, p. 920, 2020.
- (2) BEHERA S., PRIYADARSHANEE M., DAS S. Polyhydroxyalkanoates, the bioplastics of microbial origin: Properties, biochemical synthesis, and their applications. *Chemosphere*, v. 294, p. 133723, 2022.
- (3) OBRUCA S., SEDLACEK P., SLANINOVA E., FRITZ, I., DAFFERT C., MEIXNER K., SEDRLOVA Z., KOLLER M. Novel unexpected functions of PHA granules. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 104, n. 11, p. 4795-4810, 2020.
- (4) EUROPEAN BIOPLASTICS. Bioplastics Market Data; European Bioplastics: Berlin, Germany, 2023. Disponível em: <https://www.european-bioplastics.org/market/>. Acesso em: 06 jan. 2024.
- (5) ANITHA N. N., SRIVASTAVA R. K. Microbial synthesis of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and their applications. *Environ. Agric. Microbiol.: Appl. Sustain.*, p. 151-181, 2021.
- (6) MARKL E., GRÜNBICHLER H., LACKNER M. PHB-bio based and biodegradable replacement for PP: a review. *Nov. Tech. Nutr. Food Sci.*, v. 2, p. 206-209, 2018.
- (7) BROJANIGO S., PARRO E., CAZZORLA T., FAVARO L.; BASAGLIA M., CASELLA S. Conversion of starchy waste streams into polyhydroxyalkanoates using *Cupriavidus necator* DSM 545. *Polymers*, v. 12, n. 7, p. 1496, 2020.
- (8) BELLINI S., TOMMASI T., FINO D. Poly (3-hydroxybutyrate) biosynthesis by *Cupriavidus necator*: A review on waste substrates utilization for a circular economy approach. *Bioresource Technology Reports*, v. 17, p. 100985, 2022.
- (9) FAVARO L., BASAGLIA M., CASELLA S. Improving polyhydroxyalkanoate production from inexpensive carbon sources by genetic approaches: A review. *Biofuels Bioprod. BioRefin.*, v. 13, p. 208-227, 2019.
- (10) HAAS C., STEINWANDTER V., DIAZ DE APODACA E., MAESTRO MADURGA B., SMERILLI M., DIETRICH T., NEUREITER M. Production of PHB from chicory roots—comparison of three *Cupriavidus necator* strains. *Chemical and biochemical engineering quarterly*, v. 29, n. 2, p. 99-112, 2015.
- (11) SILVA, P. D. S., AMORIM M. C.C., FERREIRA I. J. S., NUNES A. C. D., SANTOS S. G. P., MOTTA M. Caracterização e avaliação paramétrica da manipueira. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 21.; Encontro Brasileiro sobre o Ensino de Engenharia Química, 16, Fortaleza. [Anais eletrônicos] 2016.

- (12) KOLLER M., MUKHERJEE A. A new wave of industrialization of PHA biopolyesters. *Bioengineering*, v. 9, n. 2, p. 74, 2022.
- (13) OLUKANNI D. O., OLATUNJI T. O. Cassava waste management and biogas generation potential in selected local government areas in Ogun State, Nigeria. *Recycling*, v. 3, n. 4, p. 58, 2018.
- (14) ASSIS D. J., GOMES G. V. P., PASCOAL D. R. C., PINHO L. S., CHAVES L. B. O., DRUZIAN J. I. Simultaneous biosynthesis of polyhydroxyalkanoates and extracellular polymeric substance (EPS) from crude glycerol from biodiesel production by different bacterial strains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 180, n. 6, p. 1110-1127, 2016.
- (15) CABRAL A. S. Tratamentos ácidos de hidrólise e avaliação de parâmetros na produção de etanol celulósico utilizando resíduos de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*). Dissertação(mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo, p. 83, 2016.
- (16) SHARIFZADEH B., M., NAJAFPOUR, G. D., YOUNESI, H., TABANDEH, F., ISSAZADEH, H., KHODABANDEH, M., Growth kinetic parameters and biosynthesis of polyhydroxybutyrate in *Cupriavidus necator* DSMZ 545 on selected substrates, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, v. 17, 2011.
- (17) TEERAPATR S., CHOLLADA S., BONGOTRAT P., WICHIEEN K., SIRINTIP C. Utilization of waste from cassava starch plant for ethanol production. In Joint International Conference on "Sustainable Energy and Environment (SEE)", 2004.
- (18) BAEI S. M., NAJAFPOUR G. D., YOUNESI H., TABANDEH F., ISSAZADEH H., KHODABANDEH M. Growth kinetic parameters and biosynthesis of polyhydroxybutyrate in *Cupriavidus necator* DSMZ 545 on selected substrates. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ*, v. 17, n. 1, p. 1-8 2011.
- (19) CAPUTO M. R., SHI C., TANG X., SARDON H., CHEN E. Y. X., MÜLLER A. J. Tailoring the nucleation and crystallization rate of polyhydroxybutyrate by copolymerization. *Biomacromolecules*, v. 24, n. 11, p. 5328-5341, 2023.
- (20) DA SILVA J., PEREIRA, F., DRUZIAN J.I. Cassava starch-based films plasticized with sucrose and inverted sugar and reinforced with cellulose nanocrystals. *J. Food Sci.*, v. 77, p. 14–19, 2012.
- (21) DE AMORIM M. C. C., DE SOUZA SILVA P. T., BARBOSA P. S., MONTEFUSCO N. E. Anaerobic biodegradation of cassava wastewater under different temperatures and inoculums. *Comunicata Scientiae*, v. 10, n. 1, p. 65-76, 2019.
- (22) Sachan, R. S. K., Devgon, I., Karnwal, A., & Mahmoud, A. E. D. Valorization of sugar extracted from wheat straw for eco-friendly polyhydroxyalkanoate (PHA) production by *Bacillus megaterium* MTCC 453. *Bioresource Technology Reports*, v. 25, p.101770, 2024.
- (23) RISTIĆ I., CAKIĆ S., VUKIĆ N., TEOFILOVIĆ V., TANASIĆ J., PILIĆ B. (2023). The Influence of Soft Segment Structure on the Properties of Polyurethanes. *Polymers*, v.15, n.18, p. 3755.

SYNTHESIS OF POLYHYDROXYALKANOATES FROM BIOCONVERSION OF CASSAVA INDUSTRY EFFLUENT BY *Cupriavidus necator*

ABSTRACT

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are widely recognized as bioplastics, but are not yet competitive with petrochemical plastics, mainly due to the high cost of the substrates used for their commercial production. On the other hand, the agro-industrial residue from cassava flour processing, manipueira, a source of nutrients and carbon, was used as a fermentation substrate for two PHA-producing bacterial species. The species tested were able to grow and accumulate PHA in the culture containing this residue, with *C. necator* DSM 545 being four times higher in PHA production than *C. necator* DSM 531. Aiming to improve carbon availability and, consequently, productive performance, the manipueira hydrolysate was developed to cultivate the best-performing strain. Under the same conditions, cultivation with hydrolysate increased biomass accumulation by 73% and PHA production by 108%, demonstrating that it is a promising alternative for adding value to the cassava production chain and generating low-cost PHAs.

Keywords: *Manihot esculenta*, residue, hydrolysate, *Cupriavidus necator*, bioplastic.